

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto  
hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum*  
*bicolor* Lindl. "sacato" en *Cavia porcellus* "cobayo".

Ayacucho 2014

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

**Bach. CABANA CONDE, DIEGO ARMANDO**

Ayacucho – Perú

2016

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Acta de sustentación de tesis:

R.D. N° 099-2016-FCSA-UNSCH

Bach. Diego Armando Cabana Conde

En la ciudad de Ayacucho, a los dos días del mes de junio del dos mil dieciséis a las cuatro de la tarde en el auditorio de la biblioteca central de la UNSCH, se reunieron los miembros del jurado de sustentación de la tesis titulada: Actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" en *Cavia porcellus* "cobayo" Ayacucho 2014, presentado por Diego Armando Cabana Conde. El jurado estuvo presidido por el Decano Dr. Emilio G. Ramírez Roca; Dr. Edwin Carlos Enciso Roca; Mg. Brita Anaya González; Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo y Mg. Marco R. Aronés Jara quien a su vez actuó como secretario Docente.

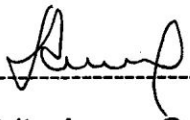
Verificado la documentación respectiva, el presidente invita al sustentante a exponer su investigación en el tiempo establecido según reglamento.

Culminado la exposición, el presidente invita a los miembros del jurado a realizar las preguntas y las observaciones pertinentes.

Seguidamente, el presidente invita al sustentante a abandonar el auditorio para que el jurado realice la evaluación respectiva, del cual se desprende:

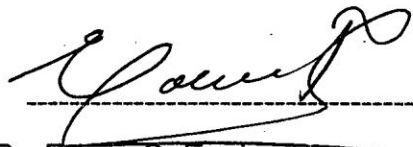
JURADO CALIFICADOR	TEXTO	EXPOS.	RPTAS	PROMED.
Mg. Brita Anaya González	17	17	17	17
Dr. Edwin C. Enciso Roca	17	17	17	17
Dr Johnny A. Tinco Jayo	18	18	18	18
Mg. Marco R. Aronés Jara	17	17	17	17
Promedio final:				17

De la evaluación realizada al sustentante obtuvo una nota promedio de diecisiete (17), del cual dan fe los miembros del jurado firmando al pie de la presente acta. Siendo las 6:35 pm finaliza el presente acto académico.




---

Mg. Brita Anaya González  
Miembro



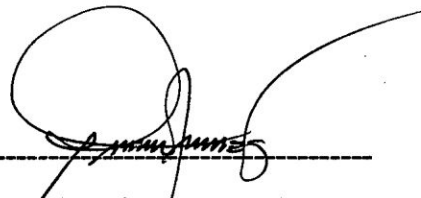
---

Dr. Edwin C. Enciso Roca  
Miembro



---

Dr. Johnny A. Tinco Jayo  
Miembro



---

Mg. QF Marco Aronés Jara  
Miembro



---

Dr. Emilio G. Ramírez Roca  
Presidente

*A mis padres Paulino y Casilda, por sus consejos,  
sus valores, por la motivación constante, pero  
más que nada por su amor.*

*A mis hermanos, mi abuelita Rosa que está en el  
cielo, tíos y a todos aquellos familiares y amigos  
que me brindaron su apoyo incondicional.*

## **AGRADECIMIENTOS**

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

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por acogerme y brindarme lo suficiente de la profesión farmacéutica.

A la plana docente de la E.P. de Farmacia y Bioquímica por compartirme sus conocimientos y experiencias, gracias a la exigencia y apoyo de ellos día a día fui creciendo como profesional de la salud.

A mi asesor Dr. Q.F. Aldo Tinco Jayo, por su valioso asesoramiento y apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato"	6
2.3. Metabolitos secundarios	12
2.4. Fisiología renal	16
2.5. Diuréticos	16
2.6. Principales clases de diuréticos	17
2.7. Furosemida	17
2.8. Espironolactona	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Ubicación	21
3.2. Materiales	21
3.3. Métodos	22
3.4. Análisis de datos	26
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	47
VII. RECOMENDACIONES	49
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
IX. ANEXOS	55

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	28
Tabla 2. Resultados del análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química de la quercetina y catequina	13
Figura 2. Estructura química de las saponinas	14
Figura 3. Estructura química de la furosemida	17
Figura 4. Estructura química de la espironolactona	19
Figura 5. Variación del volumen promedio de orina acumulados en cada hora durante el experimento, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	30
Figura 6. Porcentaje de la excreción urinaria de los grupos experimentales acumulada a las tres horas, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	31
Figura 7. Porcentaje de la excreción urinaria del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato" en relación	32
Figura 8. Medias de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", con respecto a la furosemida.	33
Figura 9. Medias de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", con respecto a la espironolactona.	34
Figura 10. Niveles de Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup> promedio excretados en la orina acumulada a las tres horas, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	35

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Parte representativa de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	56
Anexo 2. Constancia de la clasificación taxonómica de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	57
Anexo 3. Constancia de la descripción botánica de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	58
Anexo 4. Ficha etnobotánica	59
Anexo 5. Ficha de registro etnobotánica	60
Anexo 6. Flujograma del Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	61
Anexo 7. Boleta de compra de 30 <i>Cavia porcellus</i> "cobayos" expedido por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) - Ayacucho.	62
Anexo 8. Secado del <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	63
Anexo 9. Maceración hidroalcohólica de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	64
Anexo 10. Evaporación del solvente alcohólico al extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", empleando el equipo de Baño María.	65
Anexo 11. Resultado cualitativo de los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato".	66
Anexo 12. Resultado cualitativo de los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato"	67
Anexo 13. Pesaje del animal de experimentación para la evaluación de la actividad diurética.	68
Anexo 14. Preparación de las soluciones (furosemida, espironolactona y el extracto hidroalcohólico al 10%).	69
Anexo 15. Administración de la dosis correspondiente a cada animal de experimentación, tomado al azar y dividido en seis grupos de tratamiento.	70

Anexo 16.	Etapa de medición de los volúmenes de orina excretado en cada hora, después de haber administrado las dosis correspondientes a cada animal de experimentación en sus correspondientes grupos.	71
Anexo 17.	Volumen promedio de orina obtenido de los cobayos sometidos a tratamiento con <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato",	72
Anexo 18.	Preparación de la muestra para la determinación de sodio y potasio, en el equipo para dosar cationes en el hospital Nacional Arzobispo Loayza.	73
Anexo 19.	Resultados de la cuantificación de Na <sup>+</sup> en las muestras de orina recolectada en el tratamiento por extracto a una concentración de 400 mg/kg de peso de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza.	74
Anexo 20.	Resultados de la cuantificación de K <sup>+</sup> en las muestras de orina recolectada en el tratamiento por extracto a una concentración de 400 mg/kg de peso de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza.	75
Anexo 21.	Concentraciones promedio de sodio y potasio (mEq/L) en orina y razón Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> en los grupos experimentales, a las tres horas de administrar las muestras.	76
Anexo 22.	Datos descriptivos de la excreción urinaria de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco.	77
Anexo 23.	Análisis de varianza (ANOVA) de la excreción urinaria de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco.	88
Anexo 24.	Comparación de homogeneidad de medias para la excreción urinaria mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y	79

	blanco.	
Anexo 25.	Datos descriptivos de la acción diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona.	80
Anexo 26.	Análisis de varianza (ANOVA) de la acción diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona.	81
Anexo 27.	Comparación de homogeneidad de medias para la acción diurética mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona.	82
Anexo 28.	Datos descriptivos de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en relación a la furosemida.	83
Anexo 29.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en relación a la furosemida.	84
Anexo 30.	Comparación de homogeneidad de medias para la actividad diurética mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en relación a la furosemida.	85
Anexo 31.	Datos descriptivos de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona.	86
Anexo 32.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona.	87

Anexo 33.	Comparación de homogeneidad de medias para la actividad diurética mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona.	88
Anexo 34.	Test de normalidad para comparar los niveles de sodio y potasio excretados en la orina de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco.	89
Anexo 35.	Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de sodio y potasio en tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco.	90
Anexo 36.	Comparación de homogeneidad de medias para la concentración de sodio eliminado en la orina mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco.	91
Anexo 37.	Comparación de homogeneidad de medias para la concentración de potasio eliminado en la orina mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco.	92
Anexo 38.	Matriz de consistencia	93

## RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" y dosaje de electrolitos en la orina, se concretizó en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de septiembre 2015 a febrero 2016. La muestra se recolectó en el Distrito de San Salvador de Quije, provincia de Sucre, Región Ayacucho, ubicado a una altitud de 3200 msnm durante los meses de septiembre a octubre del 2015. Los metabolitos secundarios se identificaron según el método de Miranda y Cuéllar 2000. La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik y col; en la que se empleó 30 cobayos machos, a los cuales se administró agua destilada 25 mL/kg, furosemida 20 mg/kg, espironolactona 25 mg/kg, y 100, 200 y 400 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" respectivamente. Luego de administrada las dosis correspondientes se sometieron en la jaula de diuresis por un periodo de cuatro horas midiendo el volumen excretado en cada hora. Los metabolitos secundarios encontrados fueron: los flavonoides, catequinas, compuestos fenólicos, taninos y saponinas. El volumen de orina excretado por los grupos experimentales superó al excretado por el agua destilada. La actividad diurética se expresa de acuerdo a la escala como moderada a la dosis de 400 mg/kg de peso de  $0,8 \pm 0,07$  de actividad diurética comparada al estándar la furosemida y alta de  $1,36 \pm 0,2$  de actividad diurética en relación al estándar la espironolactona. Con respecto a las concentraciones de sodio no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) y las concentraciones de potasio se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Se concluye que el extracto hidroalcohólico posee actividad diurética moderada en relación a furosemida y es un ahorrador de potasio comparado con la espironolactona, el efecto es dosis dependiente.

**Palabras clave:** *Odontoglossum bicolor* Lindl., extracto hidroalcohólico, actividad diurética, niveles de sodio y potasio en la orina

## I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país muy privilegiado con una geografía muy variada y un clima muy diversificado que posee un extraordinario potencial de recursos naturales de origen vegetal como las plantas medicinales. El 80% de la población mundial recurre a estas plantas medicinales para tratar las diversas enfermedades, según nos señala la Organización Mundial de la Salud, porque son más accesibles y más baratos que los productos farmacéuticos.<sup>1</sup>

Las plantas han sido desde la antigüedad, un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y curación de sus enfermedades, en nuestro país, muchas de estas especies vegetales están siendo utilizadas en la medicina tradicional, sin mayor respaldo científico. Esta realidad nos impulsa a estudiar e investigar un sin número de especies nativas sobre todo aquellos metabolitos secundarios responsables de las propiedades curativas de estas especies, para lo cual hacemos uso de disciplinas como la Fitoquímica y la Farmacología.<sup>2</sup> Dentro de los múltiples usos las plantas tienen el aspecto curativo o medicinal donde se produce un efecto farmacológico debido a la presencia de diversos metabolitos secundarios que son capaces de ingresar al interior del organismo, interactuar y modificar la estructura del receptor para luego alterar varios procesos fisiológicos en el organismo, causando la prevención, alivio, etc.<sup>3</sup>

En las últimas décadas se ha desarrollado un gran interés en el estudio Farmacológico y Fitoquímico en las orquídeas como *Prosthechea michuacana* (cicatrizante, antiinflamatorio, hipoglucemiante y antioxidante) y la determinación de diferentes tipos de flavonoides y compuestos fenólicos, *Oncidium bifolium* Sims (actividad diurética) por la presencia de saponinas, *Cynbidium goeringii* se ha reportado actividad diurética promotora de la eliminación de agua y sodio en el organismo a través de la orina y *Cymbidium sp.*(compuestos volátiles), donde se determinaron compuestos fenólicos.<sup>3-7</sup>

El *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", es la especie más representativa de la familia orchidaceae, muy apreciada por sus flores, por poseer abundante agua y nutrientes en su estructura vegetativa (pseudobulbos). El poblador rural alto andino ha venido utilizando de generación en generación de manera empírica como alimento, medicinal y ornamental, en los últimos años con la venta de estas en los mercados locales por los vendedores de hierbas con fines medicinales, ya que esta planta representa un tratamiento alternativo frente el difícil acceso a los medicamentos, para controlar la presión alta, dolor de cabeza, diabetes, como depurativo del sistema circulatorio (diurético), etc (Anexo 4 y 5). En la UNSCH, se han realizado muchos estudios de plantas con actividad diurética, sin embargo no existe al presente ningún estudio de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la actividad diurética que validen las actividades terapéuticas atribuidas a la especie, algunos referencias bibliográficas describen como una planta silvestre en los regiones de Ayacucho, Puno, Cusco, Chachapoyas.<sup>8</sup> El conocimiento empírico, la práctica tradicional sobre el uso con fines medicinales y su influencia en la fisiología renal, se requiere realizar estudios de investigación para contribuir con la población que las utiliza, dando a conocer su potencial terapéutico para que puedan ser utilizadas de forma adecuada y segura. Basado en estos antecedentes se decide ejecutar el presente trabajo, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

**Objetivo General:**

Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" y dosaje de electrolitos en la orina.

**Objetivos Específicos:**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".
- Evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" a 100, 200 y 400 mg/kg de peso, comparar con la furosemida y espironolactona.
- Cuantificar los niveles de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> excretados en la orina de los cobayos sometidos al experimento.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

La familia orchidaceae es cosmopolita presente en casi todo los países del mundo, excepto en algunas islas. Esta familia Orchidaceae incluye a 800 géneros y más de 30000 especies, considerada por muchos como el grupo más importante de epifitas llegando a representar el 78% de este especie y es la familia con mayor número de especies comprendidas en el reino vegetal, además de miles de híbridos que se registran cada año, adaptadas a casi todas las condiciones de clima, muy resistente a diferentes temperaturas y escarchas y aunque en algunas especies requieren de bajas temperaturas para su floración.<sup>9</sup> En México las orquídeas han sido un objeto de admiración y apreciado desde hace siglos por sus flores muy bellas, cuya orquideoflora se conoce mejor, aunque el trabajo del inventariado aún no ha concluido. La importancia se basa más a sus múltiples usos como ornamental y la comercialización de sus flores, entre los géneros con más representación económica tenemos: *Cymbidium*, *Prosthechea*, *Dendrobium*, *Oncidium*, etc.<sup>9</sup>

El Perú es también un país con enorme riqueza, tanto natural como cultural debido a que se puede contar con una amplia gama de microclimas y probablemente nuestro país posee la mayor diversidad de orquídeas a nivel mundial. En la actualidad se puede contar con 212 géneros y 2312 especies de orquídeas que represente el 88 % del total de especies reportado en la lista de especies de flora que se encuentra en la CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especie Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre).<sup>10-11</sup>

Dentro de la historia de la recolección de orquídeas en el Perú viene desde el año de 1970 con la colecta documentada hecha por Taddaus Haenke en su viaje por la costa pacífica de américa, hasta poco después de 1990, la colecta y publicación de especies nuevas para el Perú era una labor arriesgada debido a

los problemas que enfrentaba el país por la subversión y las carencias de vías de acceso. Después de este periodo el número de exploradores y publicaciones comenzó a crecer, siendo uno de los principales aportes para la flora orchidaceae peruana las publicaciones de David Bennett y Erick Christenson en los *Icones Orchidacearum* publicados entre 1993 y 2001.<sup>12</sup>

El género *odontoglossum* está representado con aproximadamente 300 especies en todo el mundo, dentro de los cuales la especie *Odonthoglossum bicolor* Lindl., que se encuentra en el Herbario Truxilense (HUT) y en el herbario de Real Jardín Botánico de Kew. John Lindley en 1838 describió por primera vez donde no incluye la inflorescencia, pero más tarde en 1845 describe la inflorescencia apoyándose en la recolecciones hechas por primera vez de Hipólito Ruiz López y José Pavón (1778) que conserva en el herbario de William Jackson Hooker y las recolecciones hechas por Andrew Mathey (1832) en las altas montañas de Andamarca lugar cercano de Chachapoyas.<sup>8,10,13</sup> John Lindley en 1855 realiza una descripción científica de la especie adoptando isotipos o sinonimias como: *Cyrtochilum aureum* Lindl, *Cyrtochilum mystacinum* Lindl, *Oncidium aureum* Lindl, *Oncidium bicolor* Lindl, etc. *Cyrtochilum aureum* Lindl de inflorescencias amarillas se produce en el sur del Perú y Bolivia en elevaciones a más de 3000 msnm. En la actualidad el *odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" se encuentra reconocido dentro de la lista de especies de flora referida en la CITES, distribuidos en las regiones de Quillabamba, Puno, Canaris, Chachapoyas, Ayacucho y Apurímac.<sup>8,10-11,13</sup>

Un gran número de plantas silvestres tienen importancia económica y cultural, debido a que proporcionan alimentos, medicamentos, etc. Sin embargo, en muchos casos la sobrecolecta, extracción intensa de sus poblaciones y transformación y pérdida de su hábitat que pone en peligro su conservación de estas especies, por lo tanto es importante realizar estudios acerca de su estado actual de las poblaciones de especies, para así conocer parámetros de densidad, tasa de natalidad y mortalidad, edad, distribución y forma de desarrollo con ello se podrá saber la población si aumenta o disminuye.<sup>3</sup> En la actualidad la familia orchidaceae en nuestro país está siendo seriamente amenazada y con muchas de las especies en peligro de extinción debido fundamentalmente a dos factores: depredación selectiva de especies con fines comerciales, la destrucción masiva de su hábitat debido a la deforestación exterminando no solamente las orquídeas sino también la flora y fauna silvestre originaria del lugar, frente a ello

se debe establecer estrategias para conservar las especies por ejemplo el cultivo *in vitro*.<sup>10,3</sup>

La Organización Mundial de la Salud define las plantas medicinales como toda especie vegetal, de la cual toda o una parte de la misma está dotada de actividad farmacológica.<sup>14</sup> Las plantas son laboratorios naturales donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas llamados metabolitos secundarios, que son compuestos químicos de estructuras relativamente complejas y de distribución restringida. Entre estos metabolitos son comunes aquellos con funciones defensivas contra insectos, bacterias, hongos, como son los alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoides, cumarinas, quinonas, taninos y terpenoides. Se ha demostrado que existe gran variación en cuanto a la concentración de estos en la planta, no hay un patrón de máxima producción ni órganos especiales de almacenaje de metabolitos secundarios, sin embargo, lo común es que las mayores concentraciones de estos tipos de compuestos se encuentren en hojas, flores y semillas.<sup>15</sup> Las plantas medicinales son importantes para la investigación farmacológica y fitoquímica para el desarrollo de medicamentos, como materia prima para la síntesis de nuevos medicamentos. En la actualidad las plantas medicinales continúan siendo un valioso arsenal de sustancias químicas que aporta sustancialmente a las grandes industrias farmacéuticas.<sup>16-17</sup>

Las revisiones bibliográficas y los antecedentes registrados, justifican el desarrollo del presente trabajo de investigación. Considerando que no existen estudios que demuestren la actividad diurética del *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga ni en otras instituciones, pero si existen otras actividades relacionados dentro la misma familia orchidaceae, los diferentes estudios que se realizaron en los últimos años sobre propiedades farmacológicas y fitoquímicas fueron: Según Cervantes, en su trabajo de tesis denominado Evaluación Farmacológica de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae), especie de potencial agronómico que demostró que tiene una buena actividad hipoglucemiante, moderada actividad cicatrizante y antiinflamatoria evaluado en muestras biológicas (ratas) a una concentración de 200 mg/kg de peso.<sup>3</sup>

Neyra al evaluar el Aislamiento e identificación de los compuestos con actividad antioxidantes del extracto de cloroformo de la orquídea comestible *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae), demostró que tiene una buena actividad antioxidante

en extractos crudos de cloroformo y metanol de los pseudobulbos y raíz. También en el análisis fitoquímico cualitativo de extracto metanol de pseudobulbo y raíz presentaron prueba positiva de coloración para compuestos fenólicos, flavonoides y negativos para alcaloides de *Prosthechea michuacana*.<sup>4</sup> Watanabe et al.,<sup>6</sup> en la estructura de cymbidina A, un compuesto relacionado con peptidoglicano monomérica, con actividad hipotensora y diurética, aislado de una planta superior, *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae), demostró que tiene una actividad hipotensora y diurética a la concentración de 0,03 mg/ rata (i.p.) y 0,15 mg/kg de peso (i.p.).

García et al.,<sup>7</sup> al evaluar los componentes volátiles en la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso de *Cymbidium sp.* (Orchidaceae), identificaron compuestos fenólicos a través de la extracción por destilación de aceite esencial, en la flor (terpineol, linalool, zingiberene y sesquiterpenoides), aceite esencial de ovario (borneol, cineol,  $\beta$ -bisaboleno y otros terpenos) y en el residuo acuoso (geraniol). Mayhua, en su trabajo de tesis denominado actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", demostró que tiene una buena actividad diurética a la concentración de 500 mg/kg.<sup>18</sup>

Prado, al evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco", demuestra que el mejor efecto diurético se manifiesta a 600 mg/kg de peso con una eficacia de 70,46%.<sup>19</sup>

Armas, realizó la evaluación preclínica de la actividad diurética y antioxidante de extractos de *Dichrostachys cinerea* L. Wight & Arn. Extractos acuosos, de hojas y corteza a concentraciones de 200, 400 y 800 mg/kg de peso donde demuestra que la mayor actividad diurética fue a la dosis de 800 mg/kg de peso con una actividad diurética de (0,62) en relación al diurético de referencia la furosemida.<sup>20</sup>

Giménez, al realizar el efecto diurético del *Xanthium strumarium* L. "guizado de caballo", demostró tal efecto a 100, 200 y 400 mg/kg. También probó el efecto natriurético y kalurético y observó que los niveles de dosis ensayados mostraron un efecto diurético cuantitativamente superior a la furosemida.<sup>21</sup>

## **2.2. *Odontoglossum bicolor* Lindl.**

### **2.2.1. Clasificación taxonómica**

La determinación botánica se realizó según el sistema de clasificación de Cronquist A. 1998, en el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Clasificación sistemática de la especie:

DIVISIÓN	:MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:LILIOPSIDA
SUB CLASE	:LILIIDAE
ORDEN	:ORCHIDALES
FAMILIA	:ORCHIDACEAE
GENERO	: <i>Odontoglossum</i>
ESPECIE	: <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl.
Nombre vulgar	:"sacato"

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH (Anexo 2).

### 2.2.2. Descripción botánica de la familia orchidaceae

La familia Orchidaceae se divide en dos grupos de crecimiento simpodial y monopodial, las orquídeas simpodiales se caracterizan por tener retoños individuales de crecimiento finito y las orquídeas monopodiales en cambio tienen un tallo central cuyo extremo crece continuamente produciendo hojas alternadas e inflorescencias entre las hojas.<sup>22</sup>

#### • Estructuras vegetativas

El sistema radical de las orquídeas, es un órgano vital para el anclaje de la planta y la absorción de nutrientes. En las orquídeas terrestres, las raíces son estructuras alargadas y ramificadas, cubiertas de pelillos absorbentes. Están cubiertas por hifas que las penetran y forman dentro de las raíces nódulos. Las raíces pueden ser subterráneas o aéreas, fibrosas, carnosas o tuberosas, fasciculadas o adventicias y distribuidas sobre el rizoma o el tallo.<sup>23</sup>

Las raíces de las epífitas son aún más especializadas que las orquídeas terrestres porque pueden originarse en cualquier punto del tallo, tienen células muertas, esponjosas que se llaman velamen que facilita la absorción de agua y nutrientes, que crecen en todas direcciones, son fotosintéticas, en los tallos aéreos de las epífitas también se almacenan agua y nutrientes, por eso pueden aparecer abultados llamados pseudobulbos que se llaman técnicamente bulbos no verdaderos, estos pueden estar formados por un solo entrenudo o por varios, formas muy variadas, esféricos, ovalados, globosos, comprimidos, lisos o acostillados. Del extremo apical del pseudobulbo se originan una o más hojas y los pedúnculos de las inflorescencias se originan de la parte media o extremo apical de los pseudobulbos.<sup>22,24</sup>

Las hojas de las orquídeas siempre son simples, sus márgenes son enteros, no tienen espinas, ni son aserrados, son angostas, alargadas, son basales o caulinares, lámina filiforme, membranácea o coriácea y equitante. En las epífitas, las hojas son gruesas que sirven para almacenar agua y por tanto funcionan como tallos, algunos carecen de hojas, con una cutícula de cierto espesor y encerada.<sup>23-24</sup>

- **Estructura floral**

Las inflorescencias pueden ser terminales o laterales, subtendidas por un pedúnculo largo o abreviado, de una o más flores, comúnmente una espiga, un racimo simple o una panícula. Las flores de las orquídeas son bisexuales o perfectas, algunas unisexuales.<sup>22</sup>

Los sépalos son por lo general órganos desprovistos de clorofila que forman la funda del capullo, que protege la flor, son de tamaño y forma variable según la especie.

Los pétalos laterales usualmente son estructuras vistosas aunque de menor tamaño que el tercer pétalo central, modificado para formar el labelo, labio o corneta de la flor. Los pétalos sirven para atraer polinizadores a la planta, especialmente el labelo, que funciona como plataforma para el aterrizaje de los insectos.

El labelo siempre se sitúa opuesto a la columna, la antera fértil se recurva hacia abajo hasta quedar frontalmente al labelo.<sup>23</sup>

La columna es la estructura más característica de las orquídeas y está formada por la fusión del pistilo y los estambres; en el ápice se encuentra la antera, protegiendo los polinios, estos son suaves, céreos o duros, desnudos o con caudículas, o adheridos a un estípite o viscidio para formar una estructura compleja: el polinario. El estigma se ubica cerca del ápice de la columna, es entero a bilobulado. El ovario es ínfero, trilocular o unicular a la madurez. El rostelo que funciona como coadyuvante de intercambio cruzado de polen.<sup>24</sup>

- **Frutos y semillas**

Luego de la polinización, los granos de polen germinan sobre la superficie estigmática y los tubos polínicos se extienden hasta el ovario. Si la fertilización no ocurre la cápsula o el fruto detiene su desarrollo y muere, de lo contrario, se desarrollan los embriones. El embrión está rodeado por una cubierta o testa, por lo que necesitan fuentes de nutrición externas hasta desarrollarse lo suficiente como para sobrevivir de una forma autótrofa.<sup>22</sup>

### 2.2.3. Etnobotánica de la familia orchidaceae

Los recientes estudios muestran que las orquídeas se utilizan en muchas partes del mundo y en el tratamiento de una serie de enfermedades infecciosas, problemas relacionados con el aparato digestivo, órganos respiratorios, reproducción, la circulación, en contra de los tumores, para el alivio del dolor y para reducir la fiebre. Las orquídeas no son tan ampliamente utilizadas en la medicina tradicional como otras plantas, su principal interés es de uso ornamental, distinguiéndose por la belleza de sus flores. Según un estudio realizado en Veracruz se encontró que la *Oncidium cavendishianum* (orejas de burro) es utilizada como antihistamínico. En el estado de Yucatán, *Brassavola digbyana* (Munida de chicote) se utiliza para el dolor de cabeza, *Catasetum maculatum* (zapatito) para abscesos e hinchazón, *Epidendrum xipheres* para inflamaciones y *Vanilla fragrans* como afrodisíaco y estimulante.

El *Catasetum sp* de nombre común cebolleta, es utilizada como anticonceptivo, antiinflamatorio, *Laelia speciosa* (flor de mayo) para controlar la tos, *Oncidium sp.* (dama danzante) para el dolor de pie, *Vanilla planifolia* (bejuquillo, vainillero) para el dolor de vientre. También se menciona los usos medicinales de especies como *Isochilus sp*, *Arpophyllum spicatum* y *Prosthechea citrina* como cataplasma, para el caso de *Catasetum integerrimum* los pseudobulbos son pelados, salados y asados para aplicarlos a forúnculos y heridas.<sup>5</sup>

### 2.2.4. Estudios fitoquímicos de la familia orchidaceae

Las orquídeas presentan grandes cantidades de flavonas C-glicosiladas y flavonoles en sus hojas. En especies Brasileñas se identificaron unas glicosiflavonas metiladas. Son pocos los estudios fitoquímicos realizados en orquídeas. Las especies *Vanilla fragrans* y *V. planifolia* son las más estudiadas para obtener vainilla, producto comercial de consumo humano, donde se determinaron cumarinas y el principal principio activo vanillina. También a partir de la *V. planifolia* se aisló el ácido vanílico con actividad antimicrobiana; Se identificó el glucósido vainilla  $\beta$ -glucosidasa. En la fragancia floral de *Catasetum maculatum*, se aisló el Óxido trans-carvona, el cual es un epóxido monoterpénico y en el caso de la *Phalaenopsis ssp* orquídea mariposa, se identificó el alcaloide derivado de la pirrolizidina.<sup>4</sup> *Oncidium. bifolium* Sims. (var. *Bifolium*), presencia de sapogeninas o saponinas.<sup>5</sup>

Del extracto clorofórmico de pseudobulbos de *Prosthechea michuacana* se identificó el compuesto conocido dentro de la familia orchidaceae como giganol

3; 4-Dihidroxi-5,5'-dimetoxibencil el cual es un estilbeno, un compuesto nuevo tipo flavonoides 7, metoxi-scutillarin y otro compuesto dihidroquercetina llamado también toxifolin con actividad antioxidante.<sup>4</sup>

Del *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae), aisló cimbidina A y B un compuesto relacionado con peptidoglicona monomérica con actividad hipotensora y diurética.<sup>6</sup>

De la flor, ovario pedicelado y residuo acuoso de *Cymbidium sp.* (Orchidaceae), aislaron compuestos fenólicos como: terpineol, linalool, zingiberene, sesquiterpenoides, borneol, cineol,  $\beta$ -bisaboleno y geraniol con actividades antioxidantes.<sup>7</sup>

Del *scaphyglottis lívida* y *Nidena boothii*, (Orchidaceae) identificaron el compuesto gigantol con efecto relajante en el músculo liso por la mediación por el óxido nítrico.<sup>3</sup>

#### **2.2.5. Estudios farmacológicos de la familia orchidaceae**

Zenteno *et al.* (1995) citado por Neyra A, (2009) se encontró que la lectina (glicoproteína dimérica) del pseudobulbos de *Laelia autumnalis* presentaba la actividad hemaglutinante a eritrocitos en humanos.

Estrada-Soto *et al.* (2006) citado por Neyra A. (2009) investigaron el efecto de dos estilbenoides de *scaphyglottis* sobre el endotelio de la aorta.

Iwata *et al.* (2006) citado por Neyra A. (2009) realizaron el estudio con tallos de las orquídeas *Cymbidium* y *Oncidium dermatitis* en forma de parche para controlar lesiones eritematosas en la piel, mostró reacciones positivas.

Pinherio *et al.* (2006) citado por Neyra A. (2009) estudiaron los extractos de las hojas medicinales de *Bauhinia forticata* conocido como pezuña de vaca que es ampliamente utilizado en medicina popular como antidiabética.

Watanabe *et al.* (2007), aislaron y determinaron la estructura molecular de cimbidina A y B un compuesto peptidoglicano monomérica con potente acción vasodilatadora. Además también contiene un antioxidante conocido gigantol que funciona sinérgicamente con Cimbidina A, para inducir la liberación de óxido nítrico que fue obtenida de *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae).<sup>6</sup>

Cervantes (2008), en extractos de hojas, rizomas y pseudobulbos de *Prosthechea michuacana* realizó una evaluación *in vivo* la actividad antiinflamatoria, cicatrizante e hipoglucemiante, los resultados positivos de los efectos farmacológicos fueron por acción de los flavonoides y estilbenos.<sup>3</sup>

### **2.2.6. Descripción botánica del género *Odontoglossum***

El género *Odontoglossum* está bien representado dentro de la familia orchidaceae con aproximadamente 300 especies crece en regiones montañosas que abarca desde México hasta los andes peruanos. El mayor grupo de especies se encuentra a elevaciones de 1500 a 2700 msnm aunque algunas especies se han encontrado a más de 3600 msnm. Para el Perú se ha reportado más de 42 especies distribuido en los departamentos de Ayacucho, Cusco, Apurímac, etc. Es epífita algunas son terrestres de desarrollo simpodial provistas de un fuste rizomatoso del que se desarrollan los pseudobulbos de forma variable, más aplastada u ovalada de los cuales se originan las hojas en algunas especies directamente del fuste rizomatoso y los pecíolos abrazan los pseudobulbos, las hojas son lineales y largas muy semejante a los *Oncidium*.<sup>23</sup>

Los raíces de *Odontoglossum* son más delicadas que en otras especies de orquídeas. Los tallos florales que surgen de la base de los pseudobulbos en algunos casos del fuste rizomatoso pueden estar pendientes o erguidos, simples o ramificados y pueden tener de 5 hasta 20 flores que duran bastantes semanas, cuando la planta es más adulta dura más tiempo, las flores son grandes y llamativas, inestablemente pintados y jaspeados, una característica es que la base del labelo es soldada en muchos milímetros con la columna. El labelo tiene una forma muy variable, según la especie, normalmente más grande que los pétalos y siempre abrupto u ondulado, incidido o con nervaduras, que crece en condiciones de temperatura fresca a fría pero no heladas, en invierno disfrutan del sol directo, durante los meses invernales hay que reducir la cantidad de agua, requieren bastante humedad, fertilizante equilibrado.<sup>25</sup>

### **2.2.7. Descripción botánica del *Odontoglossum bicolor* Lindl**

Es una planta herbácea perenne, acaule, de hábito terrestre, de tamaño pequeño, presenta numerosos pseudobulbos elipsoidales, ovals de donde emergen raíces fasciculadas o fibrosas, hojas, oblongolanceoladas coriáceas, de nervaduras paralelas, atenuadas al pecíolo, dísticas que nacen dos hojas de cada pseudobulbo.

Inflorescencia en panícula con el eje erecto o arqueado, delgado y flexible de 60-120 cm de largo, las ramas del eje corta, con 6 a 8 flores como promedio. La inflorescencia nace del pseudobulbo maduro a través de la axila de la vaina de la hoja, flores bisexuales con perigonio corolino, los tépalos externos de un color marrón rojizo y los tépalos internos de un color amarillo entero, el labelo, que es

el tépalo más grande y espolonada que está provisto de un diente en la parte media a manera de una lengua; Ovario ínfero tricarpelar, trilocular. Fruto cápsula, trigonal, con numerosas semillas pequeñas de color marrón oscuro.

- **Hábitat y distribución**

Son plantas de hábito terrestre, originaria de Sudamérica, Crecen en terrenos pedregosos, en laderas en zonas alto andinas de 2700 a 3500 msnm. Florece en primavera (Setiembre a Octubre).

- **Usos**

Los pobladores de la zona alto andina consumen los pseudobulbos para controlar la presión alta, dolor de pie, diabetes, la sed, etc.

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* a cargo de la Blga. Laura, Aucasime Medina de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH (Anexo 3).

### **2.3. Metabolitos secundarios con mayor actividad diurética y su probable mecanismo de acción**

#### **2.3.1. Flavonoides**

Los flavonoides tienen una estructura química muy definida. De manera general son moléculas que tienen dos anillos bencénicos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, los autores los denominan simplemente como compuestos C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>. Los flavonoides son pigmentos naturales, presentes en los vegetales, que brindan protección al organismo de daños producidos por agentes oxidantes, el organismo humano no produce estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben de obtenerse mediante la alimentación o por medio de suplementos, se encuentran ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana.

La quercetina y la catequina son los flavonoides que presentan una mayor actividad antioxidante, debido a sus propiedades estructurales. La quercetina presenta un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en la posición 3 del anillo C, mientras que la catequina posee un grupo –OH en la posición 3 del anillo C. dicha estructura hace que ejerzan una acción inhibitoria contra los radicales hidroxilo y superóxido, que son los principales inductores de la peroxidación de lípidos.<sup>26</sup>

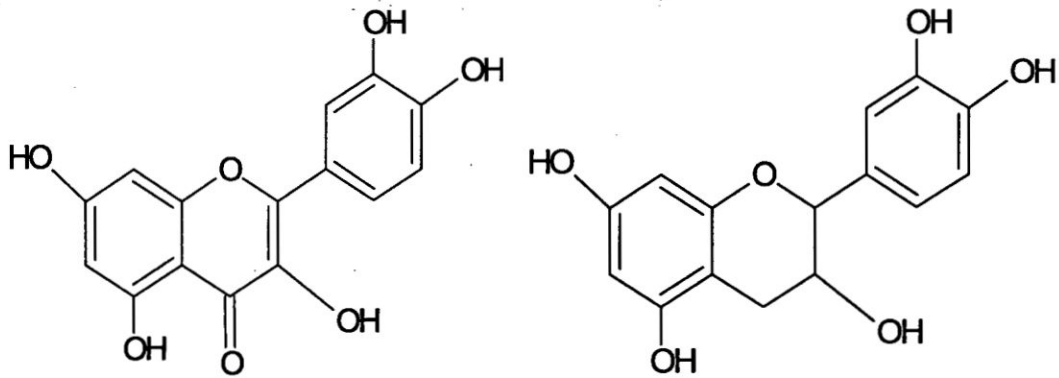


Figura 1. La estructura química de la quercetina y la catequina.

La capacidad antioxidante de los flavonoides ha sido reconocida en diversos estudios, ya que estos compuestos pueden unirse a las enzimas transportadoras de hormonas y al DNA. Además pueden quelar iones metálicos, catalizar el transporte de electrones y depurar los radicales libres. Debido a su mecanismo de acción de estos fitoquímicos se han podido usar en patologías como la diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones virales y úlceras. Se ha demostrado que protegen de la fotooxidación a la Vitamina E en la membrana celular, inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por lo que evitan la formación de ateroma y reducen la citotoxicidad de las LDL.<sup>27</sup>

Los flavonoides son compuestos fenólicos, responsables de la coloración de flores y frutos, por lo tanto "guías de néctar". Tienen como núcleo básico al 2 - fenil cromano.

Farmacológicamente son antioxidantes acción antiespasmódica, antiinflamatoria, antioagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemia.<sup>26</sup>

### 2.3.2. Saponinas

Las saponinas se encuentran como glicósidos esteroideos, glicósidos esteroideos alcaloides o bien glicósidos triterpenos. Son por tanto triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura. Se pueden presentar como agliconas, es decir, sin el azúcar (el terpeno sin el azúcar, por ejemplo), en cuyo caso se denominan sapogeninas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas.<sup>28</sup>

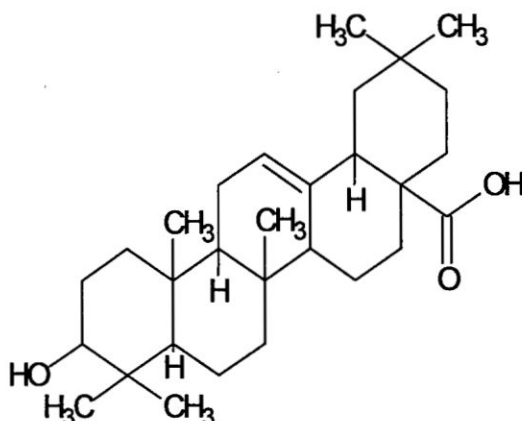


Figura 2. Estructura química de las saponinas.<sup>28</sup>

Los saponósidos se caracterizan por su capacidad, cuando se agita cualquier solución acuosa que los contenga, para producir espuma. La espuma se forma debido a que los saponósidos disminuyen la tensión superficial del agua, es decir, son tensioactivos naturales.

Los saponósidos tienen un elevado peso molecular y se hidrolizan mediante ácidos como heterósidos, mediante enzimas, dando la genina y los diversos azúcares y ácidos urónicos relacionados. Su aislamiento en estado puro es difícil. Se extraen con alcoholes o soluciones hidroalcohólicas, tras una deslipidación previa. La concentración de las soluciones se dificulta por la tendencia que tienen éstas a formar espuma.

En contacto con la sangre son hemolíticos, ya que interactúan con el colesterol de la membrana de los eritrocitos. El poder hemolítico es característico de los saponósidos triterpénicos, pero es variable según los sustituyentes de la estructura. Así, los saponósidos monodesmosídicos son hemolíticos mientras que los bidesmosídicos no lo son. Debido a su poder hemolítico resultan muy tóxicos si se administran por vía intravenosa, ya que de esta manera contactan directamente con la sangre, mientras que por vía oral su toxicidad es muy baja.

La mayoría de los saponósidos son ictiotóxicos, es decir, son tóxicos para animales de sangre fría, sobre todo para los peces.

Desde el punto de vista farmacológico, las drogas con saponósidos pueden tener diferentes acciones, las cuales se deben, sobre todo, a los saponósidos triterpénicos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, por vía oral y en dosis altas, las saponinas irritan la mucosa bucofaringea y digestiva, causando dolor abdominal, vómitos y diarrea.

A continuación, comentaremos las acciones farmacológicas como expectorante, diurético, antiinflamatorio y antiestrés; algunos saponósidos pueden tener un efecto estimulante, tonificante, antiestrés y molusquicida. Las saponinas esteroidicas se utilizan sobre todo industrialmente para obtener aglicones esteroidicas, que son precursores por hemisíntesis de los fármacos esteroidicos hormonas sexuales, glucocorticoides, etc.<sup>29</sup>

Los saponósidos tienen la capacidad de aumentar la circulación sanguínea a nivel renal, con lo que la filtración glomerular se ve aumentada y por tanto, se da un efecto diurético.<sup>30</sup>

### **2.3.3. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un grupo considerable de compuestos que pueden definirse, de una forma concisa y desde un punto de vista químico como compuesto orgánico presentes en la naturaleza que poseen, al menos, un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilos unidos a él (esos grupos funcionales pueden ser sustituidos por ésteres, metil-éster, glicósidos, etc.), aunque una definición más precisa se basa en su origen metabólico como aquellas sustancias derivadas del metabolismo de la ruta shikímico y de los fenilpropanoides.<sup>31</sup>

### **2.2.4. Catequinas**

Los flavan-3-oles más comunes y suelen ser denominados como catequinas. Éstas constituyen la base de los principales grupos de taninos condensados (procianidoles o procianidinas) son compuestos con estructura flavan-3-ol. Generalmente, las catequinas monoméricas no son incluidas dentro del grupo de los taninos, ya que casi no interaccionan con proteínas o no poseen la propiedad de precipitar las proteínas. Por catequina se entiende el 5, 7, 3',4' tetraoxiflavan-3-ol con fórmula bruta  $C_{15}H_{14}O_6$ . Presenta dos centros de asimetría y da lugar a cuatro formas ópticamente activas y a dos formas racémicas. Los flavan-3-oles se encuentran abundantemente en frutas como las guindas, las uvas y moras y cebada que son extraídos por métodos químicos, utilizando en ambos casos solventes orgánicos como el metano1 y el etanol.

Las catequinas y la quercetina son flavonoides que actúan sinérgicamente en los diversos procesos patológicos como cáncer, antioxidante, anticancerígenas enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, diabetes, obesidad, alzheimer, parkinson y otros.<sup>32</sup>

### **2.3.5. Taninos**

Los taninos son compuestos químicos complejos no cristalizables que forman con el agua soluciones coloidales de reacción ácida y de sabor muy acre, los taninos precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas; haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas; aplicado a los tejidos vivos para evitar su putrefacción, esta acción se conoce como acción astringente y así dando la base para la acción terapéutica.

Por su propiedad astringente se emplea en uso externo como cicatrizante y en el tratamiento de las quemaduras, por su capacidad de unirse a las proteínas de la piel provocando así una especie de curtido, también se les da otros usos como antidiarreico, antiséptico y antídoto.<sup>33</sup>

### **2.4. Fisiología renal**

El riñón es el órgano encargado de mantener la homeostasis del medio interno, para lo cual recibe el 20 % del gasto cardíaco. Diariamente se filtran aproximadamente 180L de agua, de los que solo se excreta un 1%. Tras la filtración en el glomérulo, los túbulos se encargan de reabsorber y secretar iones y otros elementos, hasta formar la orina definitiva, que no es más que un ultra filtrado del plasma, sin proteínas ni elementos formes.<sup>34</sup>

Las dos entidades fisiopatológicas fundamentales que requieren drogas de acción predominantemente renal están representadas por el edema, incluyendo el de las nefropatías y la diabetes insípida con su extraordinaria poliuria. Los fármacos que actúan predominantemente sobre el riñón se denominan renotrópicos y comprenden dos grupos: a) los diuréticos que modifican favorablemente el edema; b) los antidiuréticos, con acción beneficiosa en la diabetes insípida.<sup>35</sup>

### **2.5. Diuréticos**

Son drogas con capacidad de incrementar el volumen de orina o la diuresis y disminuir el líquido excesivo del espacio extracelular. Son fármacos antihipertensivos más antiguos y siguen siendo hasta la actualidad, son eficaces, económicos y generalmente bien tolerados a dosis bajas. Muchos de estos fármacos tienen efectos secundarios como la depleción de potasio, la intolerancia a la glucosa que se asocia a dosis altas. Los diuréticos son fármacos básicos en el manejo de insuficiencia cardíaca, edemas cardíacos, cirrosis hepática, ascitis y síndrome nefrótico.<sup>36</sup>

## 2.6. Principales clases de fármacos diuréticos

Según su potencia natriurética existe las siguientes clases de diuréticos.

- **Diuréticos de gran eficacia**

Tiene una intensidad diurética mucho mayor que las tiazidas. Su acción comienza antes de los 30 minutos por vía oral, y su duración es relativamente leve, de 4-6 horas, pues su curva de dosis respuesta alcanza un máximo muy alto. Son los más natriuréticos y disminuyen el clearance y la reabsorción del agua libre, por lo que actúa fundamentalmente sobre la rama ascendente gruesa del asa de Henle en toda su extensión, de ahí su otra denominación de diuréticos "del asa". Los principales son Furosemida, Bumetanida, y Ácido Etacrínico.<sup>37</sup>

## 2.7. Furosemida

Químicamente, 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.<sup>37</sup>

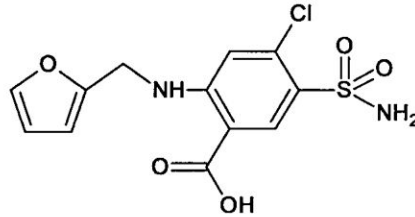


Figura 3. Estructura química de la furosemida.<sup>37</sup>

### a) Mecanismo de acción

La furosemida bloquea el cotransporte activo de sodio-cloro en la membrana luminal de la rama ascendente del asa de Henle, que es el principal mecanismo de reabsorción de iones sodio y cloruro. Producen diuresis por dos mecanismos. Uno aumentando la cantidad de solutos que llegan a las porciones distales de las nefronas, actuando estos solutos como agente osmótico que previenen la reabsorción de agua. Segundo inhibiendo la reabsorción de iones sodio y cloruro hacia el intersticio medular, reduciendo su concentración en este. En consecuencia la capacidad de concentración de los riñones disminuye mucho, también la reabsorción de agua en los túbulos colectores. Por tanto como resultado de estos dos mecanismos se genera una eliminación de un 20 a 30% del filtrado glomerular por la orina (diuresis).<sup>35,38</sup>

## **b) Farmacocinética**

La furosemida se absorbe con rapidez y pasa 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 a 30 minutos y alcanzan el efecto máximo a los 20 - 40 minutos, con una duración de 4 - 6 horas. Se unen intensamente a las proteínas plasmáticas (> 95%), por lo que son filtrados en el glomérulo en escasa cantidad; en cambio, son segregados por transporte activo en el túbulo proximal. La eliminación de la furosemida a las seis horas 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.<sup>39</sup>

### **• Diuréticos de moderada eficacia**

Son los diuréticos más importantes desde el punto de vista terapéutico. Su uso es amplio en el tratamiento de todos los síndromes edematosos, en la hipertensión arterial, en la diabetes insípida y en la hipercalciuria con litiasis cálcica recurrente.

Son menos natriuréticos que los anteriores, que disminuye el clearance de agua libre pero no la reabsorción por lo que actúa solamente en el segmento cortical de la rama ascendente gruesa del asa de Henle, y en este grupo tenemos a la clorotiazida, hidroclorotiazida, triclormetiazida.<sup>38</sup>

### **• Diuréticos de baja eficacia natriurética**

Entre ellos tenemos a los inhibidores de la anhidrasa carbónica, que aumenta el clearance de agua libre, de acción preponderante sobre el túbulo proximal como la Acetazolamida y diuréticos osmóticos como el manitol muy poco natriurético, pero capaz de eliminar abundante agua; la anhidrasa carbónica es una enzima que cataliza la reacción  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ . La enzima se encuentra distribuida ampliamente en todos los tejidos, y para que los inhibidores de la anhidrasa carbónica sean efectivos debe inhibirse el 99% de la actividad enzimática.<sup>38</sup>

### **• Diuréticos ahorradores de potasio**

Son diuréticos que, al inhibir la reabsorción de  $\text{Na}^+$  por el túbulo contorneado distal y la porción inicial del tubo colector, reducen su intercambio con el  $\text{K}^+$  y de

este modo, disminuyen la eliminación de  $K^+$ . La acción diurética es escasa, ya que el aumento de la fracción de eliminación de  $Na^+$  que provocan no supera el 5%, pero esta acción diurética puede ser mayor cuando existe hiperactividad del túbulo distal por hiperaldosteronismo primario o secundario su acción reside, sobre todo en su capacidad de interferir en los procesos de pérdida de  $K^+$ .<sup>34</sup>

## 2.8. Espironolactona

La espironolactona posee una estructura esteroide similar a la de la aldosterona, con un anillo lactónico y un radical tioacetilo en posición 7. El canrenoato de potasio es la sal potásica de un derivado g-hidroxiácido de la canrenona, la cual es, a su vez, un metabolito de la espironolactona que ha perdido el radical tioacetilo. La potencia del canrenoato es inferior a la de la espironolactona (0,30-1 para dosis única y 0,68-1 para dosis repetidas), pero al ser una sal hidrosoluble permite su administración intravenosa.<sup>37</sup>

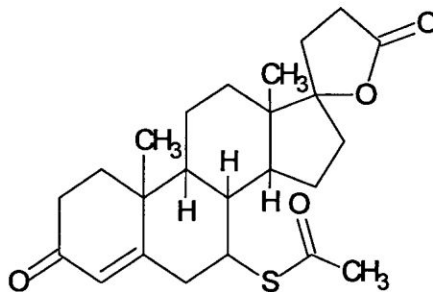


Figura 4. Estructura química de la espironolactona.

### a) Mecanismo de acción

La espironolactona es un agente esteroide, un antagonista competitivo de la aldosterona que se liga al receptor proteico citosólico e impide, que este adquiera la configuración activa. Se anula así la traslocación al núcleo, y los efectos que llevan a la síntesis de proteínas de transporte activo. El bloqueo de la acción de la aldosterona en el TD, y TC produce al contrario de la aldosterona, un aumento de la excreción de  $Na^+$  y  $Cl^-$ , y una disminución de la eliminación de potasio, hidrógeno, y amonio.

El efecto de la espironolactona, solo es evidente en presencia de aldosterona, por lo tanto es ineficaz en la enfermedad de Addison, tiene poco valor en tratamiento de la pre eclampsia, o de la insuficiencia cardíaca congestiva que cursan con escasa secreción de aldosterona; en cambio la espironolactona puede ser útil en el tratamiento del edema del síndrome nefrótico, o de la cirrosis hepática, que cursan con altos niveles de aldosterona.<sup>40</sup>

**b) Farmacocinética**

La espironolactona, se absorbe bien por vía oral, sufre una importante metabolización en su primer paso por el hígado y circula ampliamente ligada a las proteínas plasmáticas; presenta una biodisponibilidad del 90% con un tiempo máximo de 3 horas, se fija a proteínas en el 90% y su Vd es de 0,05L/kg, una parte se metaboliza en canrenona, a la que debe el 33-75% de la actividad biológica antialdosterónica y el resto de la actividad se debe a otros metabolitos que mantienen el radical 7-tiocetilo. La semivida de la canrenona es de 10 a 22 horas, dosis-dependiente, la canrenona se convierte en ácido canrenoico, que es conjugado, se elimina por orina, bilis y tarda en actuar 1-2 días, debido al tiempo necesario para que se agoten previamente las proteínas generadas por la aldosterona.<sup>41</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacología y Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de septiembre 2015 a febrero 2016.

#### 3.2. Materiales

**3.2.1. Población:** Los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", fueron recolectados de acuerdo a los procedimientos establecidos por Villar del Fresno<sup>42</sup>, del Distrito de San Salvador de Quije, provincia de Sucre, región Ayacucho, ubicado a una altitud de 3200 msnm, durante los meses de septiembre a octubre 2015 (Anexo 1).

**3.2.2. Muestra:** 500 g de pseudobulbos secos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".

**3.2.3. Selección:** se cosechó por conveniencia la parte aérea de la planta en los primeros días del mes de octubre, durante su estado vegetativo, etapa en que las transformaciones metabólicas alcanzan su máxima intensidad, exactamente antes y durante la floración a las cinco de la tarde luego de que la planta haya realizado la fotosíntesis y acumulado suficientes metabolitos, dando mayor importancia a los pseudobulbos enteros que presenten buenas condiciones y que no estén dañados ya que éstos fueron empleados para su estudio en el laboratorio.

Para la exploración e identificación botánica se seleccionó la parte aérea de la planta de preferencia raíz, pseudobulbos, hojas, inflorescencia, estos fueron trasladados al *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1 y 2).

Los pseudobulbos seleccionados fueron cortados en forma de láminas para facilitar el secado, se extendieron en una habitación ventilada sin acceso a radiación solar, extendidos sobre papel periódico para su secado, removiendo diariamente para evitar su descomposición y cambiando cada 24 horas el papel de soporte por un periodo de catorce días (Anexo 8).

**3.2.4. Unidad experimental:** 30 *Cavia porcellus* "cobayos" de la misma edad, de 350 a 450 g de masa corporal y de sexo machos, que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) - Ayacucho (Anexo 7).

### **3.3. Métodos**

#### **3.3.1. Obtención del extracto de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".**

Se pesó 500 g de muestra seca entera y se transfirió en un recipiente ámbar de boca ancha, luego se mezcló con el solvente hidroalcohólico 70° hasta conseguir que el solvente esté por encima de la muestra en aproximadamente 5 cm de diferencia, luego se maceró por siete días (Anexo 9). Durante el tiempo de maceración se agitó el frasco periódicamente para que el solvente se distribuya homogéneamente en la muestra ya que cuanto mayor sea la relación entre el líquido extractivo y la droga, será más favorable el rendimiento.

Después de la maceración se procedió a filtrar al vacío en un embudo Buchner y se llevó a sequedad en baño maría (Anexo 10), hasta obtener un extracto seco, que fue almacenado en un frasco ámbar y conservado en refrigeración hasta su uso en los ensayos fitoquímico y farmacológicos.

#### **3.3.2 Identificación fitoquímica**

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar.<sup>43</sup> (Anexo 11 y12).

#### **3.3.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".**

##### **a) Determinación de las características organolépticas**

**Olor:** Se determinó empleando una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo, un extremo de esta se introdujo en la muestra de ensayo. Se olió y determinó si corresponde con las características del producto.<sup>42</sup> Los términos para describir los olores del

extracto atomizado son: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc.<sup>42</sup>

**Color:** Se colocó la muestra en un tubo de ensayo hasta las tres cuartas partes para de esta manera se logre observar el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.<sup>43</sup>

**Sabor:** Se tomó una cantidad suficiente y se transfirió a una luna de reloj, luego se hizo contacto con la lengua, como resultado determinamos el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc.)<sup>42</sup>

#### **b) Determinación del pH**

La medición del pH se realizó empleando el equipo de pH metro, antes de proceder a medir el pH, se calibró y verificó el mismo con buffer de pH 4, 7 y 10. La reconstitución de la muestra fue de la siguiente manera, se pesó 1g del extracto hidroalcohólico y se hizo una dilución con 10 mL de agua destilada, una vez así se midió el pH y se registró el resultado obtenido como pH del extracto hidroalcohólico.<sup>43</sup>

#### **c) Determinación de la solubilidad**

Para la determinación de la solubilidad del extracto hidroalcohólico se pesó 1 g de muestra para cada solvente y se transfiere en los tubos de ensayo, a los cuales se le adiciona 10 mL de disolvente (agua, alcohol o cloroformo), se agita y observa.<sup>43</sup>

### **3.3.4 Determinación de la actividad diurética**

La metodología que se empleó para la determinación de la actividad diurética fue basada en el método utilizado por Naik y col, Luna, (1999).<sup>44</sup> (Anexo 13,14,15 y 16).

#### **a) Procedimiento experimental**

En este ensayo se utilizaron 30 cobayos machos con un peso de 350 a 450 g y se procedió de la siguiente manera:

1. Los animales fueron adaptados durante siete días a las condiciones experimentales con una temperatura ambiental y ciclos de luz/ oscuridad de 12h/12h.
2. Se suministraron alimentación controlada y agua potable apto para consumo *ad libitum*. Se alojó en jaulas de polietileno con rejilla metálica a razón de cinco animales por jaula.

3. Se privó de alimentos 18 horas antes de iniciar el experimento y de agua una hora antes.
4. Los animales fueron marcados, pesados y distribuidos aleatoriamente en seis grupos de cinco animales para cada grupo.
5. Todos los animales fueron hidratados con solución salina fisiológica al 0,9% en dosis de 50 ml/kg de peso, por vía oral mediante una sonda nasogástrica y después de 15 minutos de hidratación nuevamente se procedió a pesar y se les administró el blanco (agua destilada 25 mg/kg de peso), los fármacos (furosemida y espironolactona), el extracto de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" a las dosis a evaluar.
6. Seguidamente se sometió cada uno de los animales en las jaulas de diuresis y se activó el cronómetro y midió el volumen de orina excretada a 1, 2, 3 y 4 horas.

**b) Diseño de investigación**

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

Grupo I: Tratado con agua destilada, a una dosis de 25 mL/kg, blanco.

Grupo II: Tratado con furosemida en dosis de 20 mg/kg de peso, control referencial uno.

Grupo III: Tratado con espironolactona en dosis de 25 mg/kg de peso, control referencial dos.

Grupo IV: Administrado con el extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/kg de peso.

Grupo V: Administrado con el extracto hidroalcohólico a dosis de 200 mg/kg de peso.

Grupo VI: Administrado con el extracto hidroalcohólico a dosis de 400 mg/kg de peso.

La orina se recolectó cada hora, hasta la cuarta hora en todo los casos en una probeta graduada. Con los datos del volumen de orina se calcula la excreción volumétrica urinaria, acción diurética y actividad diurética.<sup>45</sup> Se calcularon utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Excreción urinaria} = \frac{\text{Orina producida}}{\text{solución fisiológica administrada}} \times 100$$

$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Excreción urinaria grupo tratado}}{\text{Excreción urinaria grupo control (agua destilada)}}$$

$$\text{Actividad diurética (AD)} = \frac{\text{Acción diurética}}{\text{Acción diurética fármaco referencial}}$$

Escala para actividad diurética: Alta: AD  $\geq 0,90$ , Moderada: AD (0,89 – 0,70), Baja: AD (0,69 – 0,50), Nula  $\leq 0,50$ .<sup>45</sup>

### 3.3.5. Cuantificación de niveles de electrólitos sodio y potasio en orina.

Las concentraciones de sodio y potasio excretados en orina fueron medidas a través de la metodología del electrodo de ion selectivo (ISE) para cada grupo en estudio.

- **Electrodos de ion selectivo**

Son electrodos utilizados para medir la concentración de un ion determinado en un electrolito. El proceso se basa en medir la diferencia de potencial causada por el contacto del electrodo con el ion a analizar, respecto del electrodo de referencia, el cual se encuentra con una solución estándar. Estos electrodos poseen una membrana que solo responden al contacto con un determinado ion disuelto en la solución, no es posible determinar más de un ion con el mismo electrodo y la diferencia de potencial generada a cada lado de la membrana permite determinar la concentración molar de un solo electrolito con cada electrodo que se utiliza.

Dependiendo del tipo de ion que se desea medir, la membrana del electrodo de referencia puede consistir, en una sal que no es soluble de ese ion (electrodo de estado sólido), en una membrana de PVC modificada con un intercambiador iónico o un portador de iones (Electrodo de matriz), en una membrana de vidrio (electrodo de vidrio), o en una membrana permeable a los gases (electrodo sensible a los gases). El electrodo de ion selectivo debe estar inmerso en la solución acuosa que contiene el ion que se desea medir, y en la misma solución estará también inmerso el electrodo de referencia. Cuando el ion a medir atraviesa la membrana del electrodo de ion selectivo, debido al gradiente de concentración se genera una diferencia de potencial, lo cual es proporcional a la concentración molar del ion, es decir, a mayor diferencia de potencial, mayor es la concentración del ion en la solución y tanto la concentración molar como la diferencia de potencial generada.<sup>46</sup>

- **Análisis de la muestra**

Las muestras de orina recolectada en la tercera hora, de cada grupo de estudio es acondicionado cada uno en tubos de ensayo herméticamente sellados,

señalados, refrigerado y transportado de inmediato para su respectivo cuantificación en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. (Anexo 18,19,20), utilizando el analizador automático modelo EasyLyte Plus Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> Medica para el diagnóstico *in vitro*, empleando solución calibradora propio y automática del modelo. La orina fue diluida con diluyente de orina (Easylyte), a dilución inicial 1:10 utilizando diluciones mayores o menores según concentración.<sup>47</sup>

#### **3.4. Análisis de datos**

Con los datos obtenidos se calculó las medias y desviaciones estándar de cada uno de los parámetros evaluados: excreción diurética, acción diurética, actividad diurética y contenido de sodio y potasio en la excreción urinaria para cada grupo experimental se comparó 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 los grupos control. Se usó comparaciones múltiples entre cada tratamiento a través de la prueba de HSD de Tukey y Duncan para realizar estos análisis se utilizó el programa SPSS versión 23,0.

#### **IV. RESULTADOS**

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Flavonoides	Shinoda	+++	Fase amfílica de color amarillo a rojo
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma
Compuestos fenólicos y/o taninos	FeCl <sub>3</sub>	+++	Coloración marrón oscuro
Catequinas	Catequinas	+++	Verde carmelita en UV

Leyenda: (+): Escaso (++) Regular (+++): Abundante

Tabla 2: Resultados del análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.

<b>Parámetros</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Resultados</b>
<b>Organoléptico</b>	Color	Marrón
	Olor	<i>Sui generis</i>
	Sabor	Agradable
<b>Solubilidad</b>	Agua	Soluble
	Alcohol	Soluble
	Cloroformo	Muy soluble
<b>pH</b>	Potenciométrico	5,46

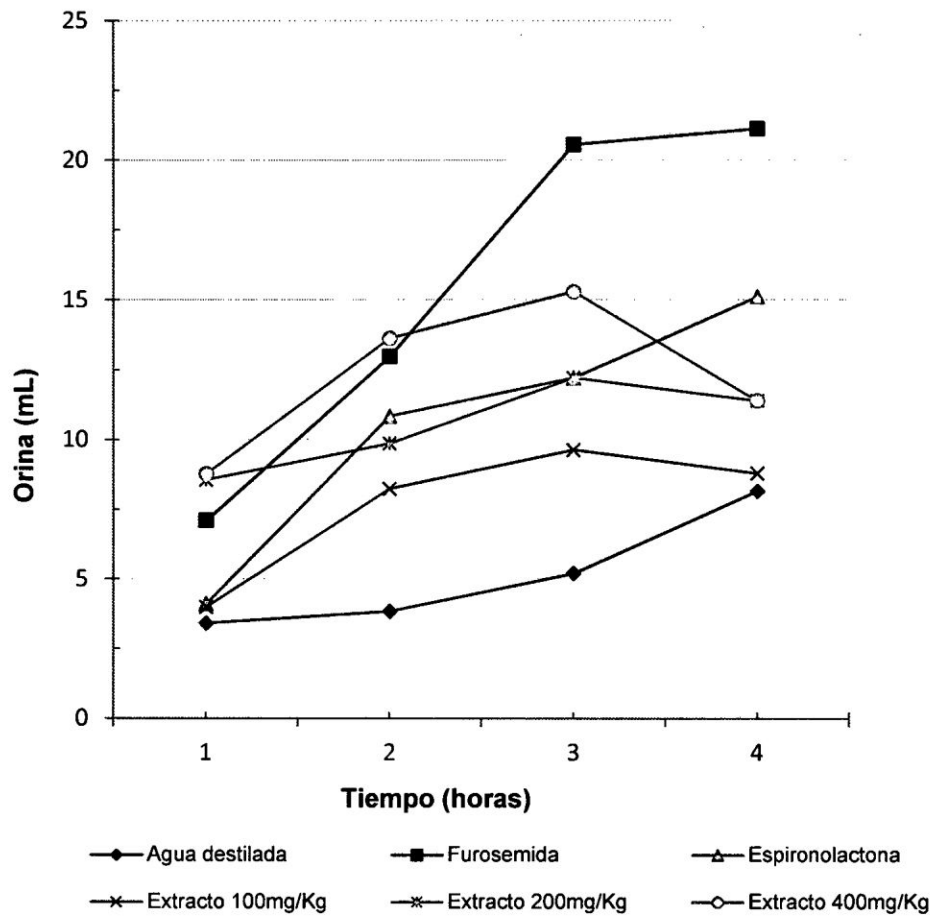


Figura 5. Variación del volumen promedio de orina acumulado en cada hora durante el experimento, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

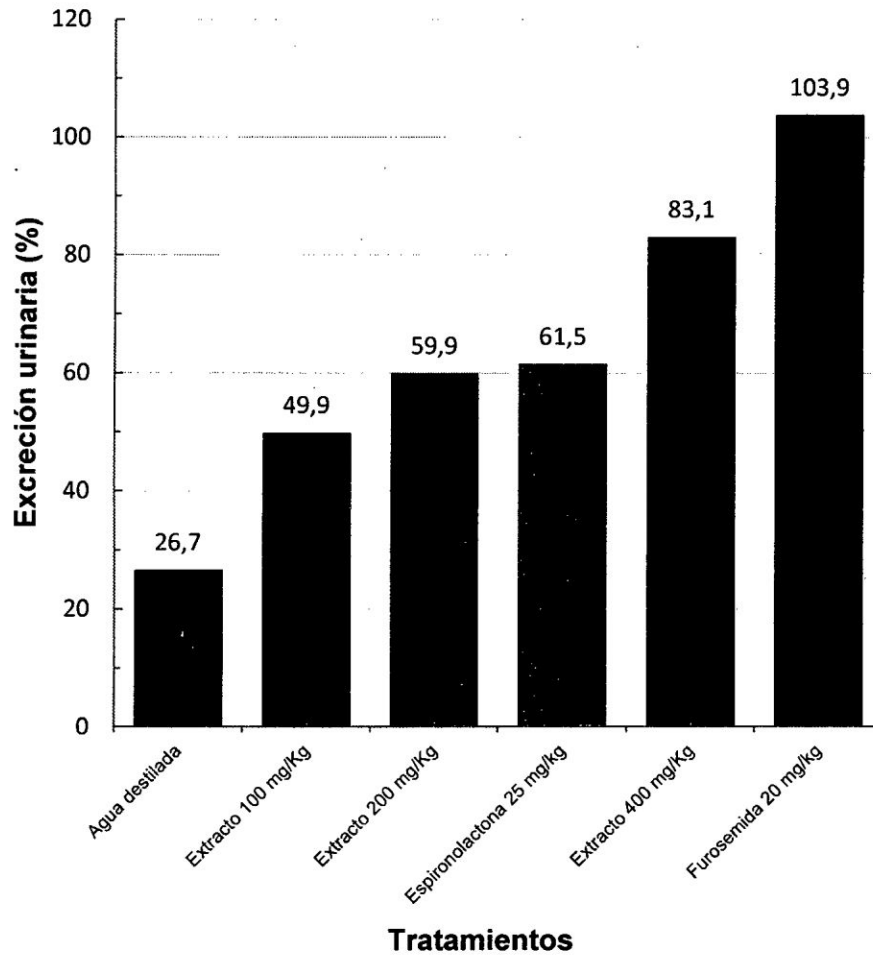


Figura 6. Porcentaje de la excreción urinaria de los grupos experimentales acumuladas, a las tres horas, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.

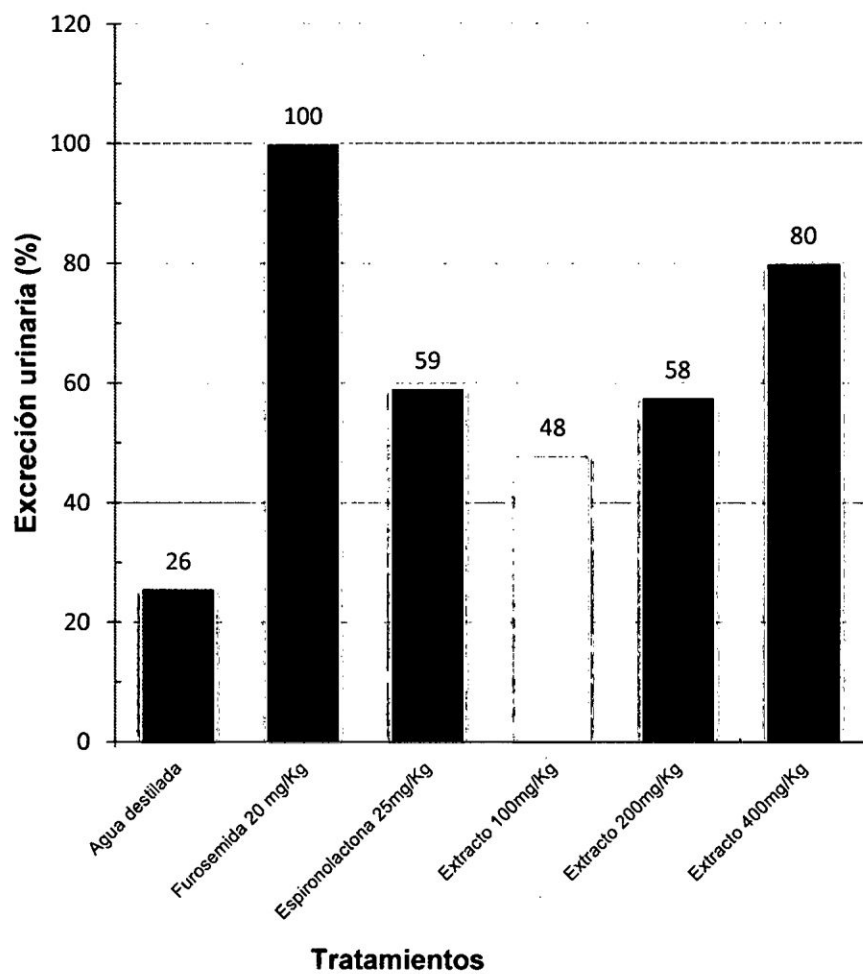


Figura 7. Porcentaje de la excreción urinaria por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida, Ayacucho 2016.

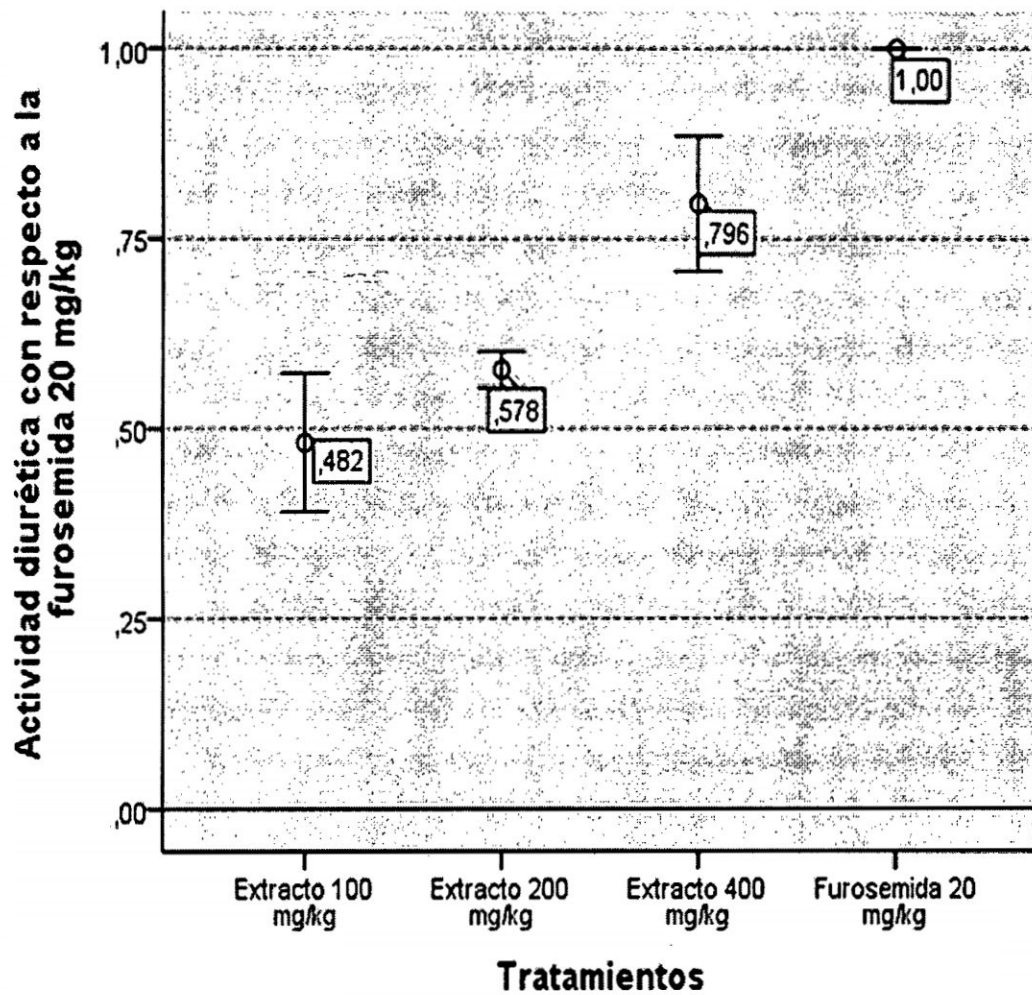


Figura 8. Actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida, Ayacucho 2016.

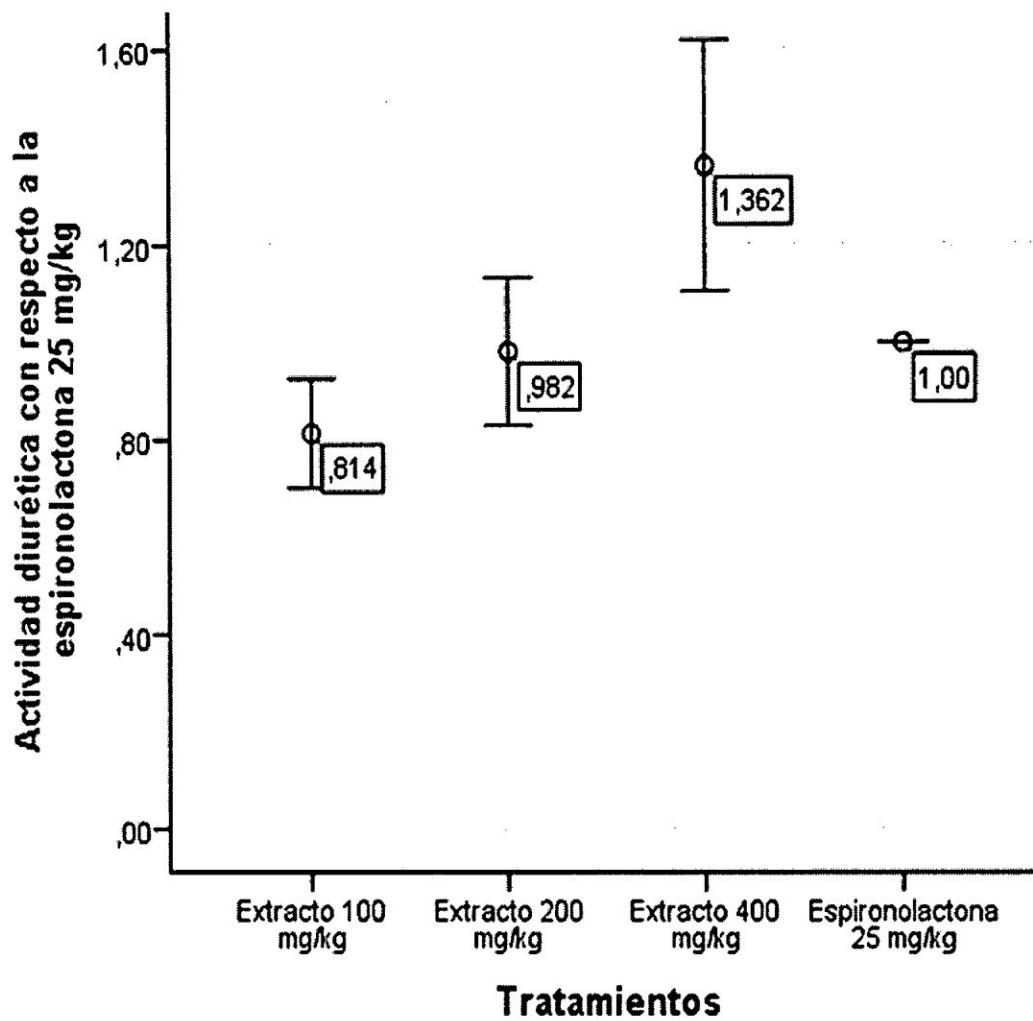


Figura 9. Actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona, Ayacucho 2016.

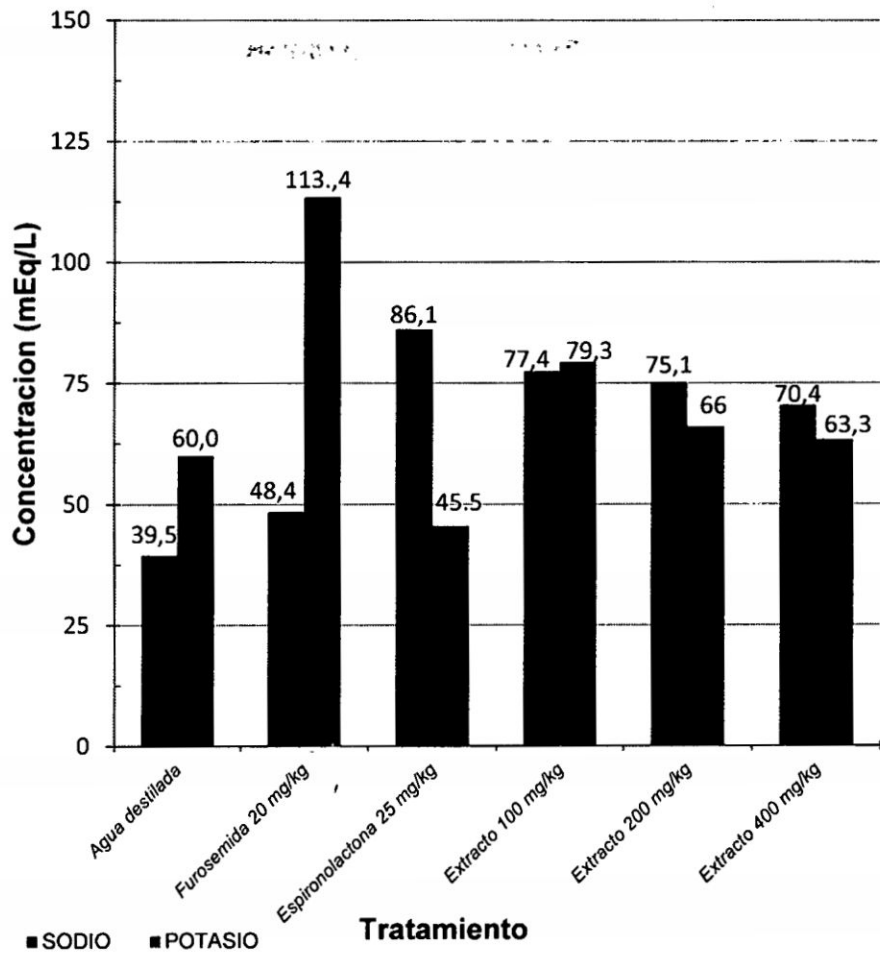


Figura 10. Niveles de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  promedio excretados en la orina acumulada a las tres horas, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

#### IV. DISCUSIÓN

La orquídea *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" es utilizada como alimento y como recurso medicinal. Los extractos hidroalcohólicos son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en drogas, en donde la concentración de metabolitos secundarios es óptima, facilitándose la dosificación de los mismos; respaldado con esta información, se llegó a extraer el metabolito de la planta en estudio con solvente hidroalcohólico a 70°.

En el presente trabajo, se realizó la prueba de identificación fitoquímica según la metodología de Miranda y Cuéllar<sup>43</sup>, encontrándose la presencia de catequinas, flavonoides, fenoles, taninos y saponinas (Tabla 1), se debe precisar la existencia de poca bibliografía específica que facilitaría una comparación. Sin embargo, de los pocos estudios realizados con esta especie vegetal los hallazgos son similares en lo que a componentes activos se refiere, así Neyra (2009); encontró cantidades moderadas de flavonoides, compuestos fenólicos en especies de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae).<sup>4</sup>

En la Tabla 2, se presentan los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico con un color marrón, olor *sui generis*, un sabor agradable, soluble en agua, etanol y muy soluble en cloroformo, pH de 5,46. Según Kuklinski,<sup>30</sup> la solubilidad depende de la forma en que se encuentran: aglicones libres: son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en disolventes orgánicos ya sean polares o apolares.

La acción diurética en las plantas medicinales puede ser causada por principios activos de naturaleza química muy variada y la sinergia de varios de estos metabolitos secundarios en la misma planta son los responsables de su acción diurética, aunque no está claro el grado de contribución de cada uno de ellos a la actividad diurética total. Los principales metabolitos secundarios que pueden intervenir en la acción diurética son: aceites esenciales, flavonoides,

saponósidos, bases xantínicas y sales de potasio.<sup>45</sup> De manera general, las plantas con propiedades diuréticas se clasifican desde el punto de vista químico en: drogas con saponósidos que poseen propiedades tensioactivas y conllevan a un aumento de la permeabilidad de la membrana filtrante glomerular acompañado de una congestión local, drogas con flavonoides que afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello complementado por el efecto vaso relajante que mejora la microcirculación a nivel de todo el organismo.<sup>20</sup> Drogas con bases xánticas y los heterósidos cardiotónicos son otras sustancias que pueden ser responsabilizadas de la acción diurética. Drogas con glúcidos: algunos aumentan la diuresis por mecanismos osmóticos (manitol) y otros inhiben la reabsorción activa de Na<sup>+</sup> en el túbulo proximal, actuando como natriurético. Otros principios activos como las sales de potasio presentes en una gran cantidad de especies medicinales podrían producir un efecto diurético gracias a un proceso osmótico.<sup>45-48</sup>

No existe estudios farmacológicos y fitoquímicos de la especie *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", para comparar y distinguir los metabolitos secundarios, se hace referencia a otros géneros muy cercanos como el *Ocidium bifolium*, *Prosthechea michuacana*, *Cymbidium goerengii* y *Cymbidium sp*, que son especies con estudios científicos validados en el aspecto farmacológico, fitoquímica, botánico y agronómico, es cierto que existen diferencias entre las especies, géneros, familias u otros factores de donde se haya recolectado la planta<sup>3-7</sup> Para evaluar la actividad diurética *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", se utilizó la furosemida y espironolactona como referencia ya que son fármacos diuréticos de máxima eficacia y el otro de baja eficacia a la vez ahorrador de potasio. Para ello se utilizó el método de Naik *et al*, Hugo (1999)<sup>44</sup> siendo este el más utilizado, adecuado y económico para la realización de este tipo de trabajo de investigación, los animales de experimentación fueron 30 cobayos *cavia porcellus* machos de 350 a 450 g, proveniente de la INIA (Anexo 7). La administración de una carga hidrosalina (solución fisiológica 0,9%) uniformiza y mejora la respuesta de la sustancia probada. El exceso de agua y electrolitos simula una situación de edema, razón por la cual en el presente trabajo se administró solución salina fisiológica a todos los animales de experimentación en el correspondiente estudio farmacológico.<sup>20,49</sup>

La furosemida ocasionó un efecto diurético marcado comparado con el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", durante las cuatro horas de la recolección de orina. Porque la furosemida es un diurético de asa que inicia su acción por vía oral a los 10 a 30 minutos y alcanza su efecto máximo a los 20 a 40 minutos, con una duración de 4 a 6 horas y ha sido utilizado ampliamente en este modelo de diuresis, incluidos varios estudios con especies vegetales.<sup>39,50</sup> El inicio de acción diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" es ligeramente rápido con respecto a los estándares furosemida y espironolactona, máximo entre la tercera hora y disminuida en la última hora de tratamiento, lo cual puede obedecer a los factores farmacocinéticos o farmacodinámicos de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".

En la Figura 5, se observa la variación del volumen promedio de orina acumulado en función del tiempo por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", resulta que el volumen promedio de orina eliminado a la tercera hora por efecto de la furosemida es de  $20,56 \pm 1,1$  mL, seguido la dosis de 400 mg/kg de peso es de  $15,3 \pm 0,6$  mL, la espironolactona  $12,22 \pm 1,1$  mL, extracto de 200 mg/kg de peso  $12,22 \pm 0,6$  mL, extracto de 100 mg/kg de peso  $9,64 \pm 0,7$  mL y blanco (agua destilada)  $5,2 \pm 0,5$  mL (Anexo 17). En el cual a medida que pasa el tiempo va aumentando la eliminación de orina y nos da un gráfico de dosis respuesta, la furosemida es mayor a los diferentes tratamientos, seguido de la muestra a 400 mg/kg de peso en comparación con el grupo, espironolactona, extracto de 200 mg/kg de peso, extracto de 100 mg/kg de peso y control negativo al que se le administró agua destilada, con estos resultados observamos que los extractos son óptimos a la tercera hora del inicio de la administración.

En la Figura 6, se observa el histograma de frecuencias, observando que la excreción urinaria EU expresado en porcentaje se halla dividiendo el volumen de orina excretado entre el volumen de líquido administrado multiplicado por cien, de este modo se obtiene el resultado en porcentaje de furosemida igual a 103,8% EU, siendo este con mayor excreción urinaria en comparación al resto de los grupos de tratamientos, la dosis de 400 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", tiene un porcentaje de 83,1% EU, espironolactona 61,5% EU, extracto de 200

mg/kg de peso 59,9% EU, extracto de 100 mg/kg de peso 49,8% EU y blanco 26,7% EU, apreciándose que a las tres horas de administradas las sustancias ensayadas en los grupos controles positivos y en los grupos tratados el porcentaje de orina excretada supera a lo excretado por el grupo control negativo (agua destilada) lo cual es una medida de la capacidad de las sustancias ensayadas de facilitar la excreción urinaria de agua y electrolitos (Anexo 22). El análisis de varianza (Anexo 23) demuestra las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), para confirmar las diferencias se recorre a la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 24), en los cuales grupos experimentales tratados con el extracto a dosis de 400 mg/kg, muestran resultados estadísticamente significativos al ser comparados con los resultados de los grupos experimentales control negativo (agua destilada) y el control positivo (furosemda), sin embargo al ser comparados con el grupo experimental control positivo la espironolactona no hay diferencias estadísticamente significativas, por lo que la excreción urinaria de los extractos estudiados a dosis de 100 y 200 mg/kg de peso es comparable con la excreción urinaria provocada por la espironolactona. Al obtener los resultados detallados procedemos a comparar nuestros resultados con otras investigaciones, en otras plantas, en otros lugares de investigación y diferentes modelos biológicos. Para evaluar el efecto diurético a diferentes niveles de dosis, se puede apreciar que muy pocas veces se ha encontrado una correlación positiva entre la dosis, tiempo y el efecto. En estudios realizados en extractos hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaelum tubeosum* "mashua" en ratas Ayacucho 2006, al evaluar la actividad diurética *in vivo* de extractos acuosos, de hojas y corteza, de *Dichrostachys cinerea* L. Wight & Arn, Santa Clara 2010, efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R. & P. "qeñoa", Ayacucho 2012<sup>18,20,48</sup>, donde el efecto fue dosis dependiente, debido a que la excreción de orina de los grupos tratados a la dosis de 500 mg/kg, 800 mg/kg y 400 mg/kg de peso fue más alto que cuando se trataron con la dosis de 250 mg/kg, 400 mg/kg y 200 mg/kg de peso. Lo mismo sucedió en la investigación, el grupo tratado a 400 mg/kg de peso excretó mayor volumen a diferencia que a 200 y 100 mg/kg de peso que fue menor, esto se debe a que el extracto hidroalcohólico es dosis dependiente. En la Figura 7, se presenta el histograma de frecuencias, observando que la excreción urinaria (EU) expresado en porcentaje se halla dividiendo el volumen de orina excretado entre el volumen de líquido administrado multiplicado por

cien, de este modo se obtiene el resultado en porcentaje de furosemida que es 100,0% EU, siendo este el mayor en comparación al resto de los tratamientos, pero a la dosis de 400 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", tiene un porcentaje de 80,0% EU, este resultado nos ayuda apreciar el buen efecto diurético que posee la planta en estudio.

La acción diurética relaciona el volumen de orina excretado por los grupos experimentales tratados con extractos hidroalcohólicos de *Odontoglossum bicolor* Lindl, el fármaco de referencia la espironolactona y el volumen de orina excretado por el grupo experimental control negativo (agua destilada), considerando que las sustancias ensayadas muestran acción diurética cuando el resultado del cociente que relaciona los volúmenes excretados, es superior a 1. Todos los grupos experimentales, controles positivos y tratados con extractos mostraron acción diurética (Anexo 25), el grupo experimental tratado con furosemida evidenció la mayor acción diurética. La acción diurética de los extractos hidroalcohólico de *Odontoglossum bicolor* Lindl para cada una de las dosis estudiadas 100, 200 mg/kg de peso mostraron resultados similares. El comportamiento de la acción diurética (Anexo 25) de los extractos hidroalcohólicos (pseudobulbos) de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg evidencian un incremento del efecto estudiando al aumentar la dosis. El análisis de varianza sirve para comparar más de dos medias, mediante este análisis, la acción diurética por efecto de los tratamientos (Anexo 26), se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos de tratamientos, para especificar esta diferencia se recurre a la prueba de Tukey y Duncan.

La prueba de Tukey (Anexo 27), muestra dos subgrupos, donde extractos de 100; 200 mg/kg de peso y el diurético de referencia espironolactona se aprecia diferencias en relación al diurético de referencia la furosemida y al extracto de 400 mg/kg de peso, asumiendo que el extracto de 400 mg/kg de peso se manifestó acción diurética comparable al diurético de referencia la furosemida.

La prueba de Duncan (Anexo 27), afirma tres subgrupos, donde el fármaco estándar la espironolactona, extractos de 100, 200 mg/kg de peso tienen un rango promedio menor de acción diurética frente al diurético de referencia la furosemida y el extracto de 400 mg/kg de peso. Sin embargo la dosis de 400 mg/kg de peso y la furosemida se hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La actividad diurética relaciona el volumen de orina excretado por los grupos experimentales tratados con extractos hidroalcohólico de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" y el volumen de orina excretado por los grupos experimentales controles positivos (furosemida y espironolactona), los resultados obtenidos al evaluar la actividad diurética de los extractos en relación con los diuréticos de referencias furosemida y espironolactona, son mostrados en la (Anexo 28 y 31). En la Figura 8, se presenta la actividad diurética (AD) por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos del *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida como estándar, los extractos de 100; 200; 400 mg/kg de peso presenta una actividad diurética de  $0,48 \pm 0,07$ ;  $0,58 \pm 0,01$  y  $0,80 \pm 0,07$  respectivamente, la primera tiene nula actividad diurética, la segunda con baja actividad diurética y la última con moderada actividad diurética según la escala para la actividad diurética en relación al diurético de referencia la furosemida.<sup>45</sup> Algunos autores reportan la actividad diurética en relación a la furosemida 50% EU, 0,68 AD; 1,9 AD y 67,42% AD a las concentraciones de 500, 800, 400 mg/kg de peso respectivamente<sup>18,20,45-48</sup>, todos estos trabajos se realizaron siguiendo el mismo método, algunos realizaron en diferente modelo biológico. Si es válido señalar que para dosis mayores de 200 mg/kg de peso de los extractos (pseudobulbos) la actividad diurética manifestada superó el 50% de la actividad diurética alcanzada por la furosemida.

En la Figura 9, en relación a espironolactona como el diurético de referencia, los extractos de 100; 200; 400 mg/kg de peso que presenta una actividad diurética a  $0,81 \pm 0,09$ ;  $0,98 \pm 0,1$ ;  $1,36 \pm 0,2$  respectivamente, la primera tiene una moderada actividad diurética y las dos últimas tiene una alta actividad diurética según la escala para la actividad diurética con respecto al diurético de referencia, este resultado se debe a que la espironolactona tiene un débil efecto diurético pero muy necesario como fármaco antihipertensivo.<sup>45,51</sup> Así queda demostrado el trabajo de investigación, considerando que la planta estudiada presenta una moderada actividad diurética comparada con el fármaco de referencia la furosemida, que es uno de los diuréticos más potentes que se conoce hasta la actualidad y alta en relación al fármaco de referencia la espironolactona. El análisis de varianza para comparar las medias de la actividad diurética en relación al fármaco de referencia la furosemida (Anexo 29) se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), para confirmar las diferencias se recurre a la prueba de Tukey (Anexo 30), en el cual muestra dos

subgrupos, el extracto de 400 mg/kg de peso es diferente a los extractos de menor concentración que no manifestaron una actividad diurética comparable al diurético de referencia. La prueba de Duncan (Anexo 30), afirma tres subgrupos donde el extracto de 400 mg/kg de peso aparece con mayor rango promedio de la actividad diurética con respecto a los demás tratamientos de menor concentración que tienen un rango promedio menor de la actividad diurética.

El análisis de varianza en relación al diurético de referencia la espironolactona (Anexo 32), se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), para confirmar las diferencias se recorre a la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 31), en el cual muestra dos subgrupos iguales para ambas pruebas estadísticas, el extracto de 400 mg/kg de peso es estadísticamente diferente a los grupos de tratamiento de 100, 200 mg/kg de peso, afirmando que el 400 mg/kg de peso tiene una actividad diurética alta en relación al diurético de referencia. Es probable que la actividad diurética de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", se debe a las acciones combinadas de los flavonoides, catequinas, compuestos fenólicos y saponinas presentes en los pseudobulbos de dicha planta.

En la Figura 10, se observa los valores del electrolito sodio en mEq/L, por efecto diurético de los diferentes tratamientos. En el presente ensayo se reporta hasta 48,4 mEq/L en la orina del grupo que recibió furosemida, espironolactona 86,12 mEq/L, extracto de 400 mg/kg 70,42 mEq/L, extracto de 200 mg/kg 75,12 mEq/L, extracto de 100 mg/kg 77,38 mEq/L y blanco 39,5 mEq/L de eliminación promedio de sodio respectivamente. Algunos autores reportan para furosemida hasta 158 mEq/L; 98,27 mEq/L; 59,50 mEq/L; 78,81 mEq/L, y 63,3 mEq/L<sup>18,20,45,52,53</sup>, valor superior al nuestro posiblemente utilizaron modelos biológicos diferentes y cuantificados en tiempos distintos. El mecanismo de acción de la mayoría de los fármacos diuréticos es decrecer la reabsorción de ion sodio, esto produce el arrastre del equivalente osmótico del agua por lo tanto la excreción de sodio urinario es paralelo a la eliminación de fluido urinario.<sup>54</sup> La eliminación alta de potasio por parte de un diurético natriurético como la furosemida, en el trabajo de investigación se debe a que las concentraciones tubulares de potasio estimulan la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa en la membrana basolateral de las células del epitelio tubular, disminuyendo la concentración de sodio en la orina. Además el potasio altera el gradiente de voltaje transepitelial, favoreciendo la reabsorción de sodio.<sup>55</sup> En el análisis de varianza (Anexo 35), el grupo control la furosemida, espironolactona y el extracto

vegetal no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) y no es necesario corroborar con la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 34), asumiendo que para el catión sodio el promedio de las medias de eliminación por efecto de la diuresis de todos los grupos de tratamientos se comportan estadísticamente homogéneos con un moderado efecto natriurético.

En la Figura 10, se muestra los valores de excreción promedio de potasio por efecto diurético de los diferentes tratamientos. Furosemida reporta hasta 113,4 mEq/L, espironolactona 45,52 mEq/L, extracto de 400 mg/kg 63,32 mEq/L, extracto de 200 mg/kg 66,0 mEq/L, extracto de 100 mg/kg 79,32 mEq/L y blanco 60,02 mEq/L de eliminación promedio de potasio respectivamente. Algunos autores reportan que para furosemida la eliminación promedio de potasio es hasta 75 mEq/L; 39,43 mEq/L; 55,83 mEq/L; 47,79 mEq/L y 123,7 mEq/L<sup>18,20,45,52-53</sup>, en algunos reportes de los valores promedios de eliminación de potasio son superiores al nuestro, posiblemente el modelo biológico que lo utilizó fueron distintas en peso promedio. La eliminación alta del catión potasio en la orina de parte del fármaco estándar la furosemida se debe al aumento del paso de sodio hacia la parte final del túbulo distal y también como consecuencia el aumento de la actividad de la aldosterona, la cual facilita la eliminación de potasio.<sup>54</sup> El análisis de varianza (Anexo 35), sobre la eliminación de potasio en los grupos de tratamiento reporta que existe al menos una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), el cual fue evaluado con la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 37). La prueba de Tukey demuestra que en el primer subgrupo los tres extractos, blanco y espironolactona son comparables en la eliminación de ion potasio por efecto de los tratamientos. Además se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en relación al diurético de referencia la furosemida. En el segundo subgrupo los tres extractos, la furosemida y blanco, tuvo una eliminación comparable del ion potasio por efecto de la diuresis. Además se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en relación al grupo control la espironolactona (ahorrador de potasio). La prueba de Duncan demuestra la diferencia de rangos entre los tratamientos, los grupos de tratamientos que poseen una disminuida eliminación del ion potasio por efecto de la diuresis se encuentran la espironolactona, los extractos 100, 200, 400 mg/kg de peso y el blanco. En el segundo grupo se encuentra los tratamientos con valores superiores, el extracto de 100 mg/kg de peso y la furosemida donde la eliminación del ion potasio por efecto de la diuresis es mayor en relación al

extracto de 400 mg/kg de peso, extracto 200 mg/kg de peso, blanco y la espironolactona (ahorrador de potasio). Se aprecia en los extractos hidroalcohólico de *Odontoglossum bicolor* Lindl, tiene una disminución de la excreción del ion potasio al incrementar la dosis de los extractos administrados. Otro aspecto el cociente  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  puede orientar el mecanismo diurético, para furosemida valores aproximados a (1), elimina igual ambos electrolitos; las tiazidas ( $< 1$ ) aumentan la excreción de potasio, y espironolactona ( $>1$ ) ahorrador de potasio.<sup>45,50</sup> Comparado con este parámetro, los extractos de 400 mg/kg, 200 mg/kg resultaron ( $>1$ ), la espironolactona (ahorrador de potasio) fue ( $>1$ ) y el extracto de 100 mg/kg de peso resultó valores aproximados a 1 (Anexo 21).

Se considera el extracto de 200, extracto de 400 mg/kg de peso posee un efecto kalurético comparable con el diurético de referencia la espironolactona (ahorrador de potasio), este comportamiento ahorrador de potasio es ejercida por las acciones de los flavonoides presentes en la planta, su mecanismo de acción es inhibir la síntesis biológica de la aldosterona, través de un efecto de eliminación de señalización de Angiotensina II, consecuencia de ello disminución en la síntesis y producción de la aldosterona que regula la eliminación de potasio y la reabsorción de sodio en el túbulo colector.<sup>56</sup> Se sostiene que las plantas medicinales tienen efecto diurético, mediante un mecanismo de excreción acuosa, debido a una acción hemodinámica renal, resultado tanto un incremento en la circulación renal y por consiguiente incremento de la tasa de filtración glomerular, más que tubular como resultado la formación primaria de orina.<sup>56-57</sup> La filtración glomerular no requiere aporte energético, porque la fuerza impulsora en la presión arterial de la membrana filtrante es suficiente, por otro lado al aumentar el flujo sanguíneo renal como consecuencia del uso de diuréticos de origen vegetal, aumentaría también la filtración glomerular, a esto se le conoce como diuréticos acuaréticos.<sup>58-59</sup> Los compuestos que pueden presentar un mecanismo de excreción acuosa, son los flavonoides y catequinas que son capaces de actuar como relajantes del músculo liso vascular por estimulación de la vía endotelial de Óxido Nítrico dependiente de su segundo mensajero  $\text{GMP}_c$  y compuestos fenólicos glicosilados tienen efectos inhibitorios del simportador  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$  y  $\text{ATPasa}$ , lo cual impacta en el gradiente de concentración de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  en las células epiteliales del segmento tubular de la nefrona.<sup>51,56</sup> Las saponinas y otros compuestos presentes también aportan de alguna forma en la capacidad de

aumentar la circulación sanguínea a nivel renal, con lo que la filtración renal se ve aumentada y por tanto un efecto diurético.<sup>30</sup>

El trabajo de investigación aporta un alcance significativo en el campo de la fitoquímica, farmacológica y a la medicina tradicional que indica el uso del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odonthoglossum bicolor* Lindl. "sacato" como agente diurético.

## V. CONCLUSIONES

1. Se encontró la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, saponinas, compuestos fenólicos y catequinas.
2. La excreción volumétrica urinaria de los grupos experimentales superaron la excreción urinaria del grupo blanco (agua destilada) y el extracto de 400 mg/kg de peso presenta mayor excreción urinaria 83,12%.
3. La actividad diurética evaluada corroboró esta acción, los extractos hidroalcohólicos de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", con mayor acción diurética fue de 400 mg/kg de peso, con una actividad diurética moderada de  $0,80 \pm 0,1$  en relación a la furosemida y con una actividad diurética alta de  $1,36 \pm 0,2$  en relación con la espironolactona.
4. Los niveles de potasio excretados en la orina fue 63,32 mEq/L a dosis de 400 mg/kg de peso que fue menor a la furosemida 113,4 mEq/L y estadísticamente similar en relación a espironolactona 45,52 mEq/L.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios sobre el *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", para determinar con precisión el metabolito secundario responsable del efecto diurético y otras actividades relacionadas.
2. Realizar estudios de toxicidad de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".
3. Desarrollar más estudios de investigación de plantas nativas de nuestra región y que se elabore fitofármacos.
4. Realizar más estudios sobre su farmacobótica, demográficos, formas de expansión vegetativa, propagación y su conservación con fines de aprovechamiento.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. UICN-OMS-WWF. Directrices sobre Conservación de plantas medicinales Organización Mundial de la Salud (OMS). [sede web]. Gland, Suiza. 1993. Disponible en: [http://www.urosario.edu.co/uosario\\_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf](http://www.urosario.edu.co/uosario_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf)
2. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en amazonía peruana: Segunda edición, Lima – Perú, 2000.
3. Cervantes M. Evaluación Farmacológica de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae), especie de potencial agronómico. [Tesis de maestría en ciencias] Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional-México, 2008.
4. Neyra A. Aislamiento e Identificación de los Compuestos con Actividad Antioxidante del Extracto de Cloroformo de la Orquídea comestible *Prosthechea michuacana*. [Tesis de maestría en ciencias alimentos] Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos. Instituto Politécnico Nacional - México, 2009.
5. Chifa C, Ricciardi A. Saponinas en plantas empleadas en etnomedicina en el Chaco Argentina. Revista de la Facultad de Farmacia; Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela. [revista en internet]. 1999 [acceso 22 de marzo de 2015]; Vol. 37: 23-25. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2001/7Tecnologicas/T066.pdf>
6. Watanabe W, et al. Structure of Cymbidine A, a Monomeric Peptidoglycan-Related Compound with Hypotensive and Diuretic Activities, Isolated from a Higher Plant, *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). Chemical and Pharmaceutical Bulletin. [revista en internet]. 2007 [acceso 10 de abril de 2016]; 55(5): 780-783. Disponible en: [http://ci.nii.ac.jp/els/110006273065.pdf?id=ART0008289121&type=pdf&lang=en&host=cinii&order\\_no=&ppv\\_type=0&lang\\_sw=&no=1460228088&cp=](http://ci.nii.ac.jp/els/110006273065.pdf?id=ART0008289121&type=pdf&lang=en&host=cinii&order_no=&ppv_type=0&lang_sw=&no=1460228088&cp=)
7. García V, Rodríguez M, Hernández M, Trejo-Téllez L, Pedraza M, Santos P, Valdovinos G. Volatile Components in the Flower, Pedicellate Ovary and Aqueous Residue of *Cymbidium* sp. (Orchidaceae), Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation. [revista en internet ]. 2013 [acceso 10 de abril de 2016]; 212-218. Disponible en: [http://file.scirp.org/pdf/JASMI\\_2013102213512479.pdf](http://file.scirp.org/pdf/JASMI_2013102213512479.pdf)
8. Dalstrom S. A Synopsis of the Genus *Cyrtochilum* (Orchidaceae; Oncidiinae): Taxonomic Reevaluation and New Combination, Lindleyana [revista en internet]. 2013 [acceso 22 de marzo de 2016]; 16(2):56-80. Disponible en: <http://www.epidendra.org/LITERATURE/Dalstroem%202103%20%20Golden%20Cyrtochilum/Dalstroem%2013%20%20Golden%20Cyrtochilums.pdf>.
9. Avendaño O. Inventario de Orquídeas en San Julio Chilchotla, Oaxaca. Tesis de la Universidad Autónoma Chapingo - México, 2007.
10. Millán B. Listado de especies CITES peruanas Flora silvestre. Ministerio del Ambiente, Lima-Perú, 2011.
11. Horna M, Monzón K, Ramírez C, Burgo K, Bernabé L. Revisión de la Familia Orchidaceae presente en el Herbarium Truxilense (HUT). Revista de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. [revista en internet] julio-diciembre, 2011 [acceso 22 de marzo de 2016]; 31(2). Disponible en:

file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrador/Mis%20documentos/Downloads/Revisi%C3%B3n%20de%20la%20Familia%20Orchidaceae%20p  
resente.pdf

12. Becerra E. Diversidad de la Familia Orchidaceae, en el sector quebrada Yanachaga del Parque Nacional de Yanachaga – Chimillen, Pasco – Perú. [Tesis de pregrado] UNMSM, Lima – Perú, 2007.
13. Pupulin F. The Orchidaceae of Ruiz y Pavon. Flora Peruvian et Chilensis. A Taxonomic study. I. Anales Jard Bot. Madrid. [revista en internet]. 2012 [acceso 22 de marzo de 2016]; 69(1):21-79. Disponible en: [http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/anales/2012/69\\_1\\_21-79.pdf](http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/anales/2012/69_1_21-79.pdf).
14. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, (2010). I Foro: Investigación y Biocomercio en plantas medicinales y alimenticias de uso Tradicional en el Perú. 15 de octubre de 2008.
15. Soto F. Caracterización química, fitoquímica y antibacteriana *in vitro* de las hojas del *Anacardium occidentale* L. (Marañón) [Tesis en maestría en Química-Biológica]. Bayamo, Granma, Cuba, 2011.
16. Jayasuriya D. The regulation of medicinal plants - a preliminary review of selected aspects of national legislation. Unpublished Report.
17. Pargas A. Plantago Major L., Estudio "in vitro" de su efecto antifúngico y Test de Irritabilidad Dérmica Primaria de una crema elaborada con sus hojas. Rev Cubana Plan Med, 1996.
18. Mayhua H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. [Tesis de pregrado] UNSCH. Ayacucho - Perú, 2006.
19. Prado N. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos. [Tesis de pregrado] UNSCH. Ayacucho - Perú, 2008.
20. Armas Y. Evaluación preclínica de la actividad diurética y antioxidante de extractos de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn. [Tesis de pregrado en ciencias farmacéuticas] Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara, 2010.
21. Jiménez L, León M; Herrera R, García G, Cadenas J. Efecto diurético del *Xanthium strumarium* L. "guizazo de caballo", trabajo de investigación realizado en el Instituto Superior de Ciencias Médicas "Carlos J. Finlay". Camagüey, Cuba, 2009.
22. Kuan C; González L. Introducción al cultivo y manejo de las orquídeas 1993.
23. Rodríguez R. Orquídeas y su cultivo Vol. 1. Cattleya y géneros relacionados. Ed. por la Asociación Costarricense de Orquideología. Litografía e Imprenta LIL. 1995.
24. Rodríguez R, Mora, D, Barahona M, Williams N. Orquídeas de Costa Rica. San José, Costa Rica. Editorial Universidad de Costa Rica, 1986.
25. Aju Upun M. Las Orquídeas Bases Generales para su conocimiento y enseñanza. Tesis de Maestría en Docencia Universitaria en la Facultad de Humanidades de la Universidad de San Carlos de Guatemala - Guatemala, 2009.
26. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Edit. Acribia S.A. Zaragoza, España – 1999.
27. Limón D, Díaz A, Mediata L, Luna F, Zenteno, E. y Guevara J. Los flavonoides mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos lab. de neurofarmacología, Facultad de Ciencias Químicas BUAP2 Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.Vol. XXXIV, 143-154. Mexico-2010.

28. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas, Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, Madrid – España, 2009.
29. Díaz L. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Revista de Estudios Transdisciplinarios [revista en internet]. 2009 [acceso 22 de marzo de 2016]; 1(2). Disponible en: [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=13015492&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v20n06a13015492pdf001.pdf&ty=169&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.comes](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13015492&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v20n06a13015492pdf001.pdf&ty=169&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.comes).
30. Kuklinski C. Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera Edición, Editorial Omega S.A. España - 2003.
31. Muños A. Ramos-Escudero, F. Alvarado, C. Evaluación de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Facultad de Medicina Habana. USMP. Lima-2007.
32. Menéndez C. Efectos vasculares de la quercetina y la catequina: interacciones y papel de los procesos de conjugación y desconjugación metabólica. [Tesis de doctorado] Universidad Complutense de Madrid-España, 2012.
33. Evans W. Farmacognosia. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México, 1991.
34. Harrison T. R. Principios de medicina interna. 18ª edición. México: Mc Graw Hill, 2012.
35. Guyton A. Tratado de fisiología médica. Editorial Ibero América, octava edición, Madrid -1992.
36. Goodman A. y Gilman, P. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Tomo II. Undécima edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Bogotá - Colombia - 2007.
37. Rémington G. Farmacia. Tomo II. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires - Argentina, 2003.
38. Litter M. Compendio de Farmacología. 3ª ed. Editorial Ateneo. Buenos Aires - Argentina, 2001.
39. Smith y Col. Farmacología. Tomo II. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires - Argentina, 1999.
40. Flores J. "Farmacología Humana" Tercera Edición. Editorial Masson S.A. Barcelona- España – 1998.
41. Velásquez L. Farmacología y su proyección a la clínica Edit. Oteo-Madrid – 1985.
42. Villar del Fresno M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. Madrid España, 1999.
43. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio, farmacognosia y productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad la Habana. Habana – 2000.
44. Luna H. Estudio comparativo del efecto diurético de la furosemida en cobayos (*cavia porcellus*) y ratas (*Rattus norvegicus*) [tesis pregrado]. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 1999.
45. Daud A, Habid N, Sánchez A. Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa) y *phrygilanthus acutifolius* (corpo). Estudio comparativo en ratas. Boletín Latinoamericana y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas [revista en internet]. 2007 [acceso 22 de marzo de 2016]; 6(6). 337-339. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85617472013.pdf>.

46. La guía. (2010). Electrodo ion selectivo [Online].  
Disponible: <http://química.laguia2000.com/enlaces-quimicos/electrodo-ion-selectivo>
47. La guía. EasyLyte PLUS [Online]. Disponible:  
[http://www.medicacorp.com/wpcontent/uploads/Medica\\_EasyLyte\\_brochure.pdf](http://www.medicacorp.com/wpcontent/uploads/Medica_EasyLyte_brochure.pdf)
48. Quintana C. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R. & P. "qeñoa". Tesis UNSCH. Ayacucho-Perú, 2012.
49. Boffill M; Lorenzo G, Monteagudo E, et al. Diuretic Activity of five medicinal plants used popularly in Cuba. *Pharmacology online* [en Internet]. 2006 Mar [citado 6 de agosto 2007], Disponible en:  
[http://www.unisa.it/download/1966\\_145\\_226226808\\_40.bofill.pdf](http://www.unisa.it/download/1966_145_226226808_40.bofill.pdf).
50. Ramírez J. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "canchalagua" en ratas albinas. [Tesis en maestría en farmacología experimental] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú, 2010.
51. Pérez M; Morrón F. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*, [revista en internet]. 2011[acceso 17 de marzo de 2016]; 6(2). 35-40. Disponible en:  
[http://www.revistahipertension.com/r/h\\_6\\_2\\_2011/h3.pdf](http://www.revistahipertension.com/r/h_6_2_2011/h3.pdf).
52. Apestequia J. Efecto diurético del zumo del fruto del limón *citrus limón* L., en ratas de experimentación. [Tesis de maestría en farmacología experimental] UNMSM. Lima – Perú, 2009.
53. Vilcapoma E. Actividad diurética del extracto atomizado de hojas de *Xanthium catharticum* HBK. "amor seco", niveles de sodio y potasio en la orina. [Tesis de pregrado] UNSCH, Ayacucho – Perú, 2012.
54. Salazar M. Estudio etnobotánica de *Eysenhardtia Polystachya* (Ort.) Sarg. En una Comunidad del municipio de Zempoala, Hidalgo y Evaluación del efecto diurético en rata. [tesis pregrado]. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 2007.
55. Ramírez H, Palacios M, Gutiérrez O. Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. *Revista Biomédica del Instituto Nacional de Salud* [revista en internet], 2006 [acceso 30 de marzo de 2016]; 26(1). Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1403>.
56. Alarcón J. Evaluación del efecto diurético de *Hibiscus sabdariffa* L. Como antagonista de la aldosterona. [Tesis de doctorado en ciencias biológicas] Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa - México, 2012.
57. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Marrero E. Validación de un método *in vivo* para evaluar la actividad diurética. *Revista cubana de Investigaciones Biomédica* [revista en internet]. 2011[acceso 18 de febrero de 2016]; 30(3):332-344. Disponible en:  
[http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=78063&id\\_seccion=666&id\\_ejemplar=7745&id\\_revista=67](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=78063&id_seccion=666&id_ejemplar=7745&id_revista=67).
58. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Victoria M, et al. Actividad diurética de una decocción de *costus pictus* D. Don. *Revista cubana de plant med* [revista en internet]. Abr-Jun. 2010[acceso 20 de marzo de 2016]; 15(10). Disponible en:  
[http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol\\_15\\_2\\_10/pla02210.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_2_10/pla02210.htm).
59. Naranjo A. Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador. [Tesis de pregrado] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba-Ecuador, 2013.

## **ANEXOS**

Anexo 1. Parte representativa de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2015.



**Anexo 2.** Constancia de la clasificación taxonómica de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2014.



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 Sr. **Diego Armando, CABANA CONDE**, 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	:	LILIOPSIDA
SUB CLASE	:	LILIIIDAE
ORDEN	:	ORCHIDALES
FAMILIA	:	ORCHIDACEAE
GENERO	:	<i>Odonthoglossum</i>
ESPECIE	:	<i><b>Odonthoglossum bicolor</b></i> Lindl.
N.V.	:	" sacato "

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

Ayacucho, 09 de Diciembre del 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dra. Laura Arcasima Madina  
JEFE

**Anexo 3. Constancia de la descripción botánica de *Odontoglossum bicolor* Lindl.  
"sacato", Ayacucho 2016.**

*Odontoglossum bicolor* Lindl.

**Nombre común :** "sacato"  
**Familia :** Orchidaceae

**DESCRIPCIÓN BOTÁNICA**

Es una planta herbácea perenne, acule, de hábito terrestre, de tamaño pequeño, presenta numerosas pseudobulbos elipsoidales, ovales de donde emergen raíces fasciculadas o fibrosas; hojas lineales, oblongolanceoladas coriáceas, de nervaduras paralelas, atenuadas al pecíolo, disticas que nacen 2 hojas de cada bulbo.

Inflorescencia, en panícula con el eje erecto o arqueado, delgado y flexible de 60-120 cm de largo, las ramas del eje cortas, con 6 a 8 flores como promedio. La inflorescencia nace de del pseudobulbo maduros a través de la axila de la vaina de la hoja; flores bisexuales con perigonio corolado, los sépalos externos de un color marrón rojizo y los sépalos internos de un color amarillo entero, el labio (que es el sépalo más grande y espolonado) está provisto de un diente en la parte media a manera de una lengua; Ovario trifloro tricarpelar, trilocular. Fruto cápsula, trigonal, con numerosas semillas pequeñas de color marrón oscuro.

**HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN:**

Son plantas de hábito terrestre, originaria de Sudamérica. Crecen en terrenos pedregosos en laderas de la zona altoandina, de 2700 - 3500 msnm. Florece en primavera (Septiembre - Octubre).

**USOS :** Los pobladores de la zona consumen los pseudobulbos para tratar la diabetes.

#### Anexo 4. Ficha etnobotánica

**Nombre científico:** *Odontoglossum bicolor* Lindl.

**Nombres populares:** “Sacato” (Provincia de Sucre - Ayacucho) y “sacapa” (Provincia de Huanta - Ayacucho)

**Sinónimos:** *Cyrtochilum aureum* Lindl, *Cyrtochilum mystacinum* Lindl, *Oncidium aureum* Lindl, *Oncidium bicolor* Lindl. (Pupulin, 2012)

**Familia botánica:** Orchidaceae

**DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA:** Es una planta herbácea perenne, acaule, de hábito terrestre, de tamaño pequeño, presenta numerosos pseudobulbos elipsoidales, ovales de donde emergen raíces fasciculadas o fibrosas, hojas, oblongolanceoladas coriáceas, de nervaduras paralelas, atenuadas al peciolo, dísticas que nacen dos hojas de cada pseudobulbo. Inflorescencia en panícula con el eje erecto o arqueado, delgado y flexible de 60-120 cm de largo, las ramas del eje corta, con 6 a 8 flores como promedio. La inflorescencia nace del pseudobulbo maduro a través de la axila de la vaina de la hoja, flores bisexuales con perigonio corolino, los tépalos externos de un color marrón rojizo y los tépalos internos de un color amarillo entero, el labelo, que es el tépalo más grande y espolonada que está provisto de un diente en la parte media a manera de una lengua; Ovario ínfero tricarpelar, trilocular. Fruto cápsula, trigonal, con numerosas semillas pequeñas de color marrón oscuro. (Anexo 3)

**DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:** Originaria de Sudamérica natural de las regiones de Ayacucho, Apurímac, Puno, Cusco, Chachapoyas. (Dalstron, 2013)

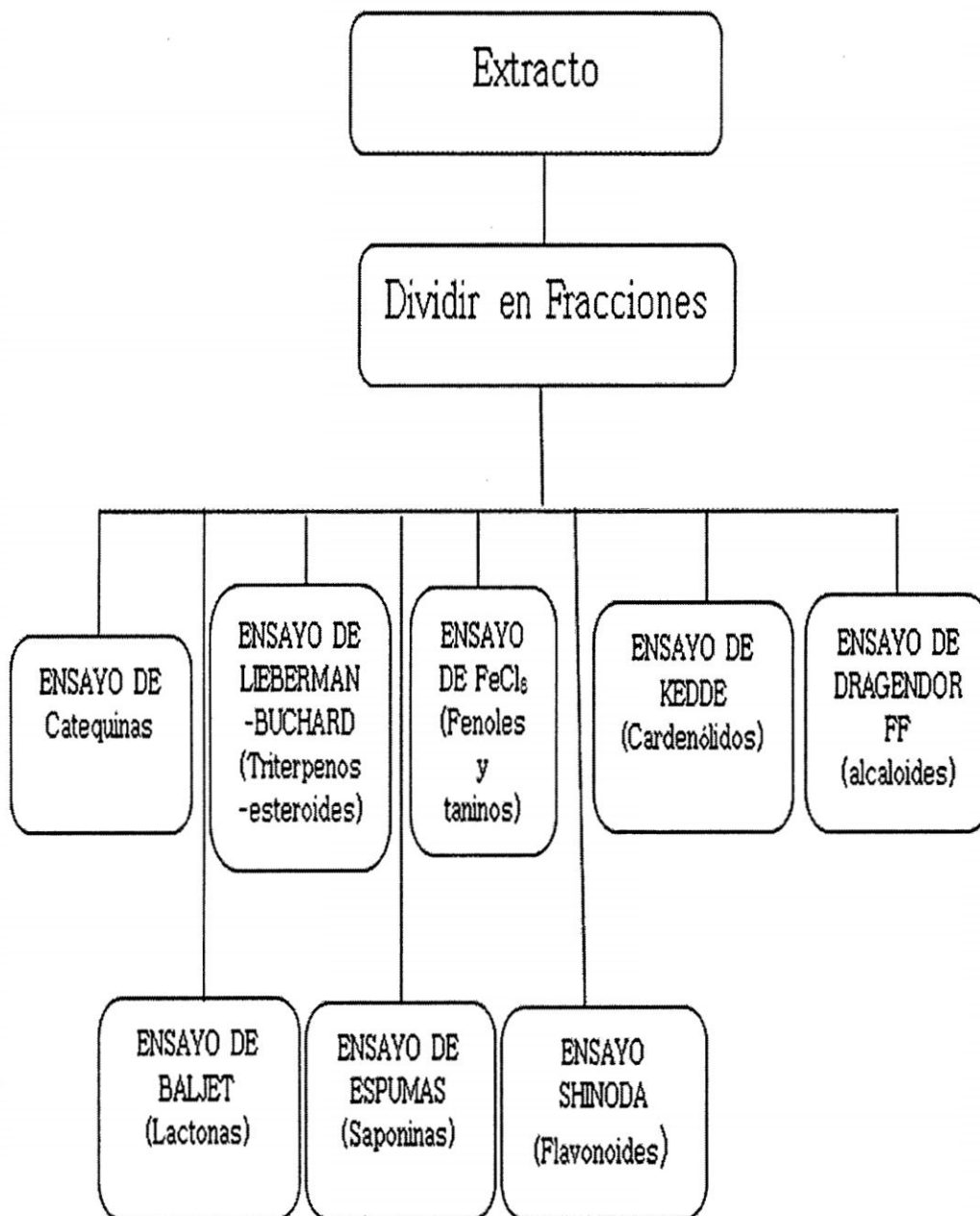
**HABITAT:** Crecen en terrenos pedregosos, en laderas en zonas alto andinas de 2700 a 3500 msnm. Florece en primavera (Setiembre a Octubre).

**USO MEDICINAL:** Los pobladores de la zona consumen directamente los pseudobulbos para controlar la presión alta, dolor de pie, diabetes, calmante de la sed, limpieza del riñón (diurético), gastritis, etc.

### Anexo 5. Ficha de registro etnobotánica

Especie: <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl.		Localidad: Quije		Altitud: 3200 msnm	
Familia: Orchidaceae		Región: Ayacucho		Departamento: Ayacucho	
Nombres populares: "sacato"		Provincia: Sucre		Distrito: San Salvador de Quije	
Origen: Sudamérica		Distribución: Perú ( Ayacucho, Apurímac, Puno)			
Hábitat: terrestre		Otros países: Bolivia, Ecuador			
Usos					
Alimentación ( x )	Medicinal ( x )	Cosmetología ( )		Alucinógeno ( )	
Conf. Vestido ( )	Forraje ( )	Artesanal ( )		Maderera de aserrío ( )	
Ornamental ( )	Combustible ( )	Curtiembre ( )		Tintóreo ( )	
Const. Vivienda ( )		Oleaginosa ( )		Toxico ( )	
Otros: (especifique)					
<b>REFERENCIAS ETNOBOTÁNICAS MEDICINALES:</b>					
1. Aplicación:		Interna ( x )		Externa ( )	
2. Estado en que se emplea:		Fresca ( x )		Seco ( )	Ambos ( )
3. Forma de preparación:		Cocimiento ( )	Infusión ( )	Molienda ( )	Zumo ( x )
		Maceración ( )	Otros: consumo directo		
4. Vías de administración:		Oral ( x )	Rectal ( )	Tópico ( )	Auricular ( )
		Nasal ( )	Vaginal ( )	Otros:	
5. Forma de aplicación	Frotación ( )	Gárgaras ( )	Balos ( )	Emplasto ( )	Fomento ( )
	Inhalación ( )		Polvos ( )	Lavados ( )	Otros:
6. Informante:	Brujo ( x )	Curandero ( )	Curioso ( x )	Promotor de salud ( )	Medico ortodoxo ( )
	Raíz ( )	Rizoma ( )	Bulbos ( x )	Tallo ( )	Hojas ( )
7. Parte empleada:	Flores ( )		Inflorescencia ( x )	Frutos ( )	Semillas ( )
	Ramas jóvenes y adultas ( )		Corteza ( )	Látex ( )	Resinas ( )
	Secreciones ( )		Planta entera ( )		
8. Composición química: Desconoce					
9. Detalles referenciales: (especificación en forma de uso, dosificación, etc.)					
1,5 a 2 Kg de los pseudobulbos para controlar la presión alta					
10. Fuente de información: (nombre del informante, edad, ocupación, Herbario consultado, bibliografía consultada). Hipólito CABANA LLAMOCCA de 79 años, agricultor.					
11. Colector: Diego Armando CABANA CONDE			Numero de colección: 01/100		Fecha: 23/09/2015
12. Observaciones:					

**Anexo 6.** Flujograma del Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2014.



**Anexo 7.** Boleta de compra de 30 *Cavia porcellus* "cobayos" expedido por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), Ayacucho 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGRARIA  
 ESTACION EXPERIMENTAL AGRARIA CANAAN - AYACUCHO  
 PNI ANIMALES MENORES

NOTA DE VENTA 015

Canaan, 5 DE FEBRERO DE 2016

SEÑORES : DIEGO ARMANDO CABANA CONDE

RUC / DNI : 46088996

DIRECCIÓN : HUAMANGA AYACUCHO

TELEFONO : 0

TOTAL CUYES 30

*Entregado*

CANTIDAD	DESCRIPCION	PRECIO UNITARIO	TOTAL
30	CUY RECRÍA I, MACHO, LINEA WARI	12.00	360.00
0	0	0.00	0.00
0	0	0.00	0.00
0	0	0.00	0.00
0	0	0.00	0.00
0	0	0.00	0.00
0	0	0.00	0.00
30			360.00

The table contains a handwritten signature in the 'DESCRIPCION' column. There are two stamps: a rectangular stamp that says 'PAGADO' and a circular official stamp from the 'CASA DE TESORERIA DE AYACUCHO' with the name 'PAULINO HUAMAN HUAYTA' and a signature.

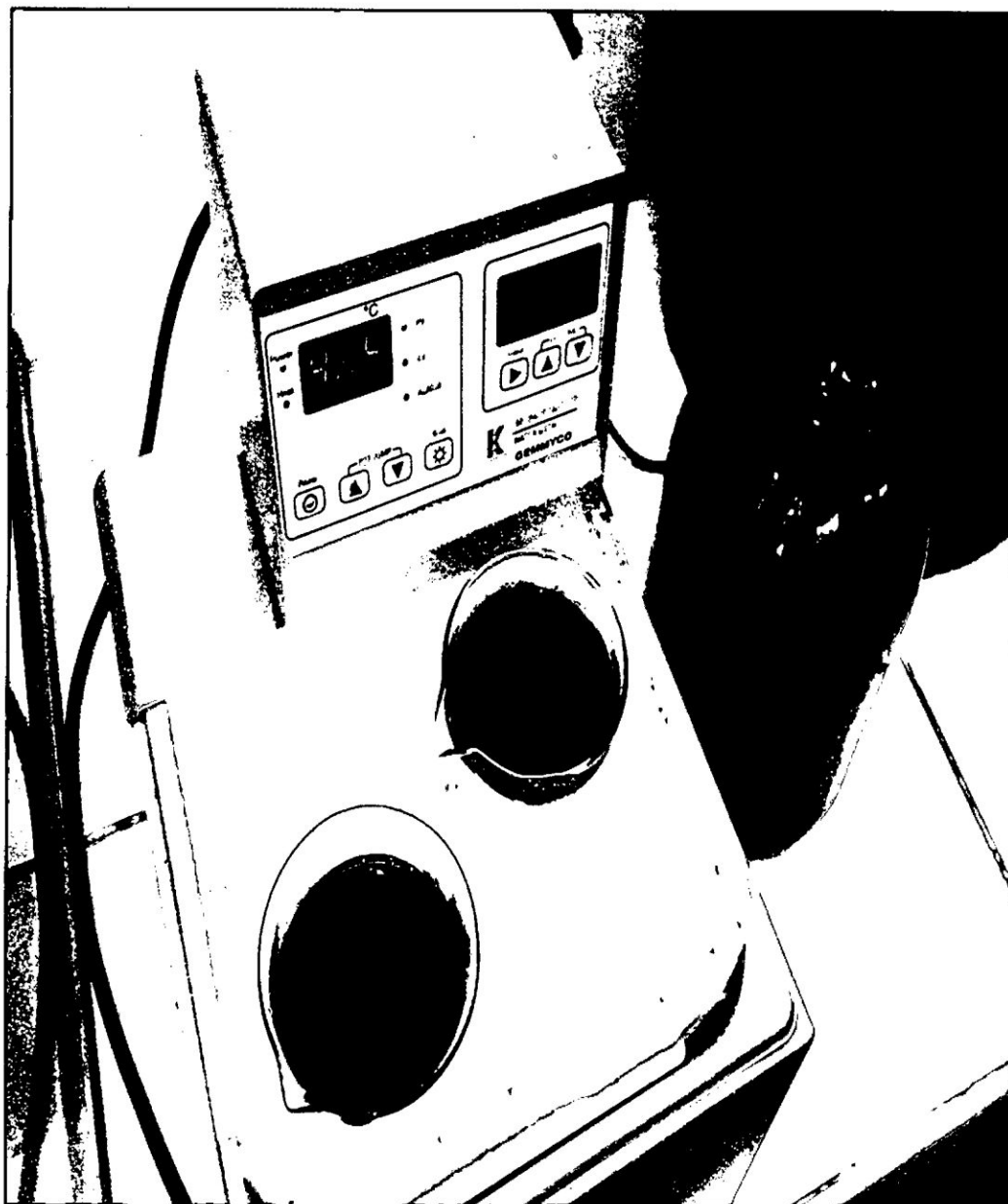
Anexo 8. Secado de los *pseudobulbos* de *Odontoglossum bicolor* Lindl.  
"sacato", Ayacucho 2015.



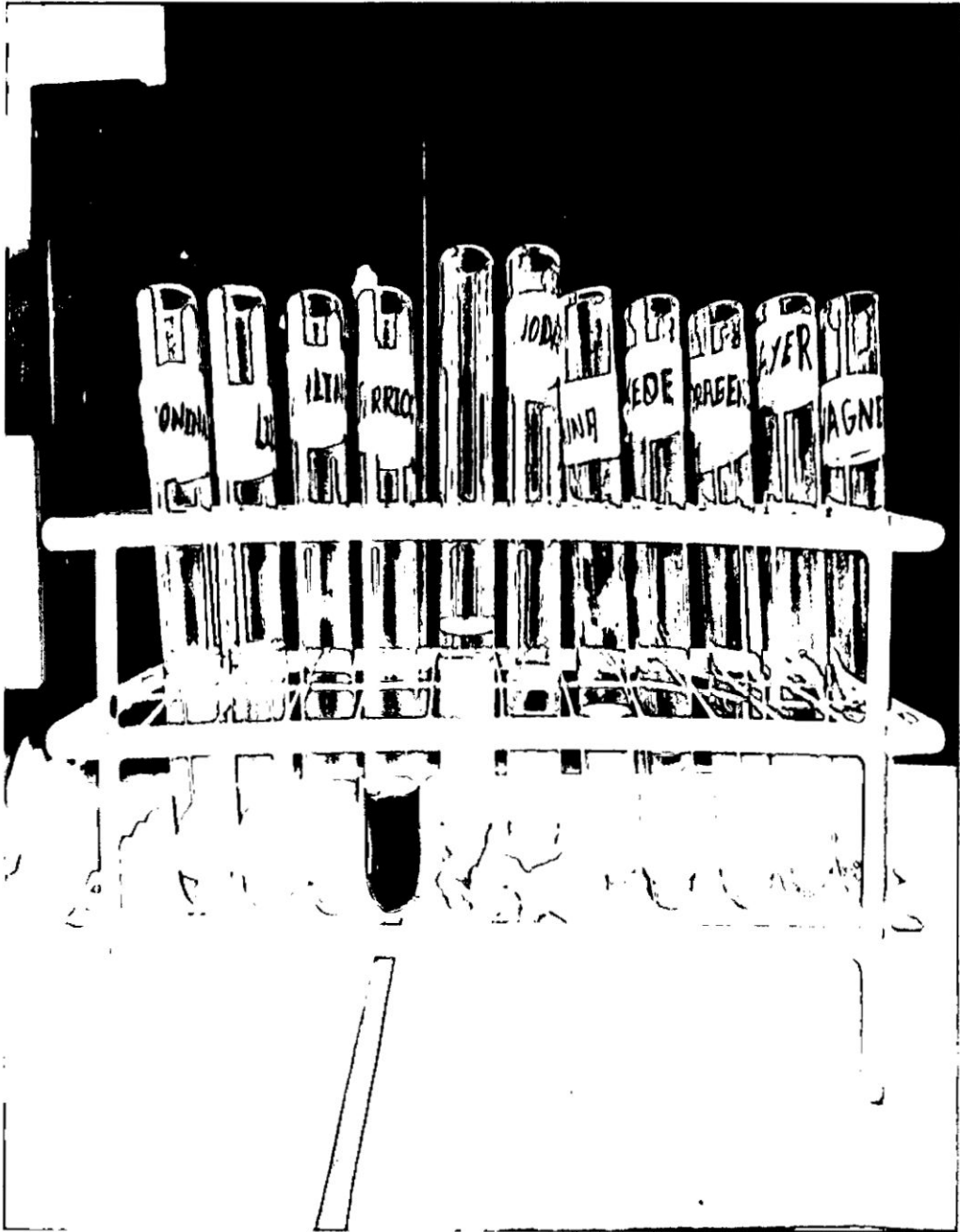
**Anexo 9.** Maceración hidroalcohólico de los *pseudobulbos* de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2015.



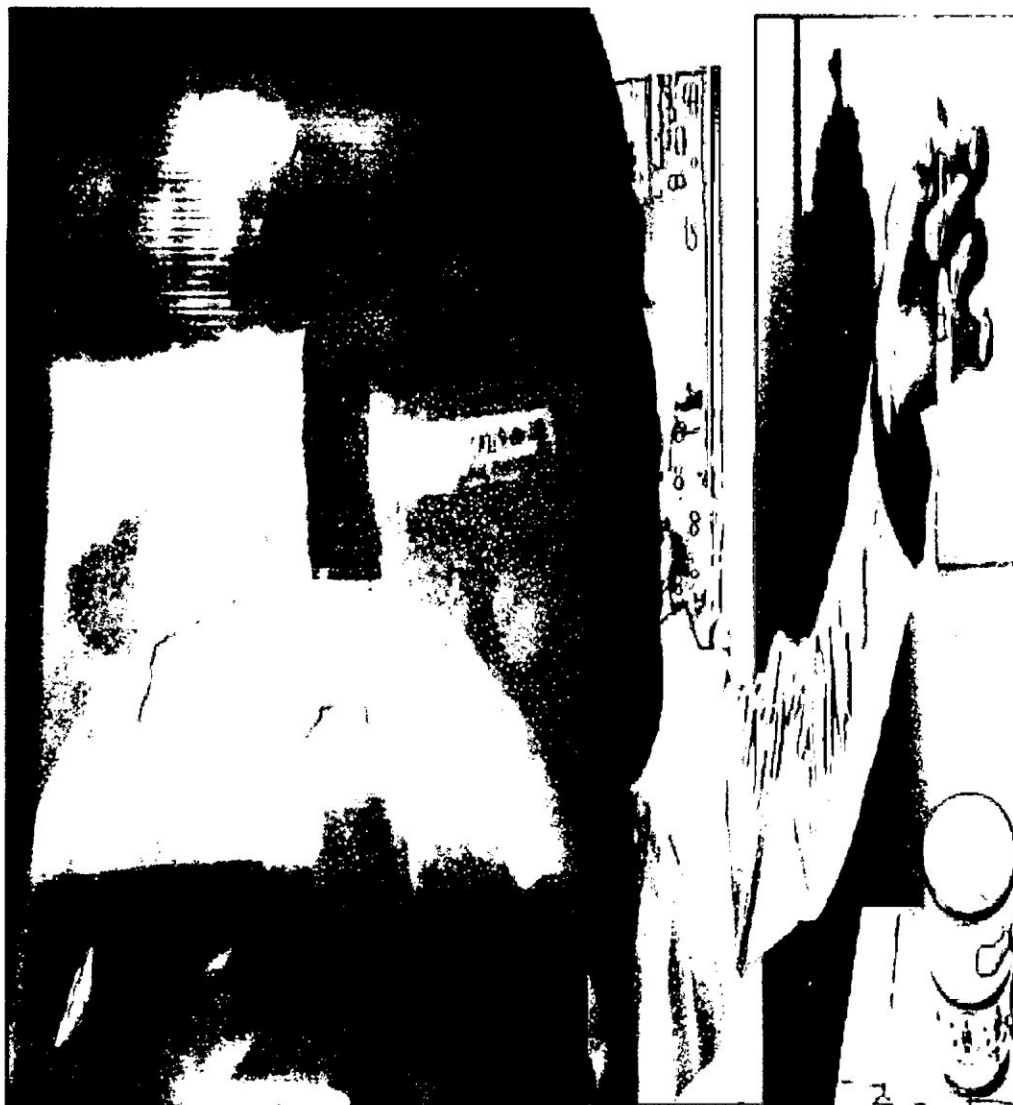
**Anexo 10.** Evaporación del solvente alcohólico al extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odonthoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2015.



Anexo 11. Resultado cualitativo de los metabolitos secundarios identificados en el extracto de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.



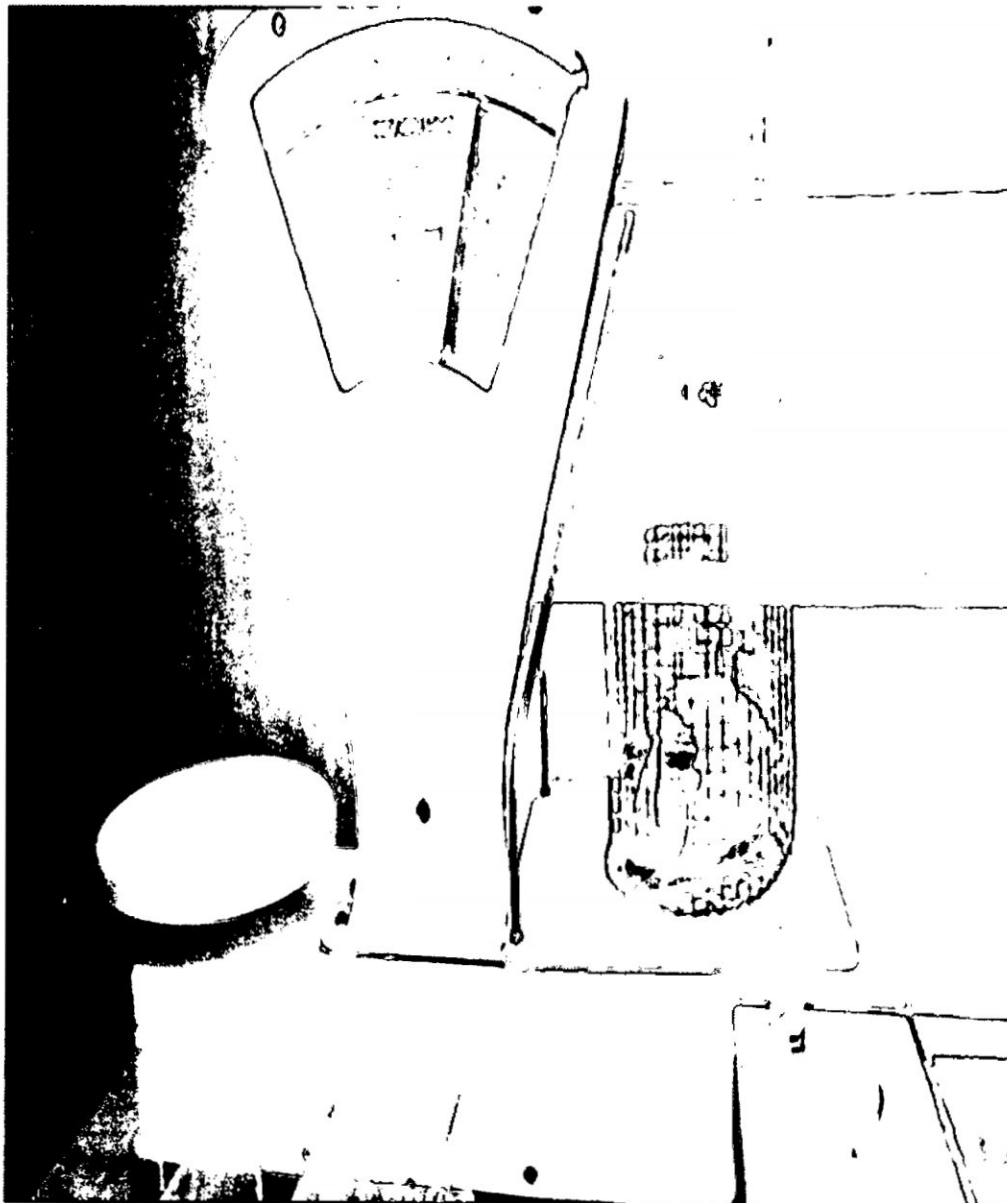
**Anexo 12.** Resultado cualitativo: **A)** Catequina, **B)** Saponina de los metabolitos secundarios identificados en el extracto de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.



**A**

**B**

Anexo 13. Pesaje del animal de experimentación para la evaluación de la actividad diurética, Ayacucho 2016.



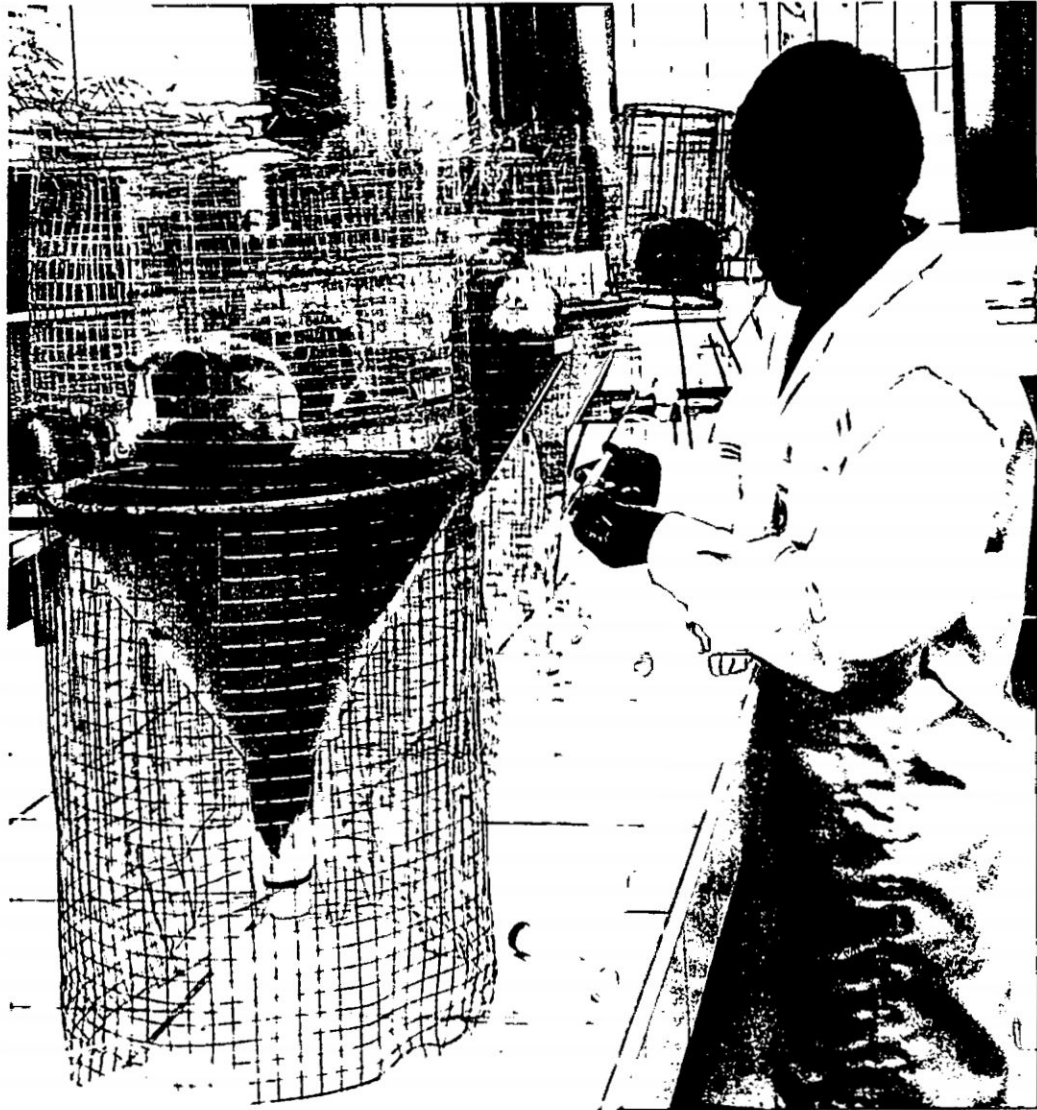
**Anexo 14. Preparación de las soluciones (furosemida, espironolactona y el extracto hidroalcohólico al 10%), Ayacucho 2016.**



**Anexo 15.** Administración de las dosis correspondientes a cada animal de experimentación, tomado al azar y dividido en seis grupos de tratamiento, Ayacucho 2016.



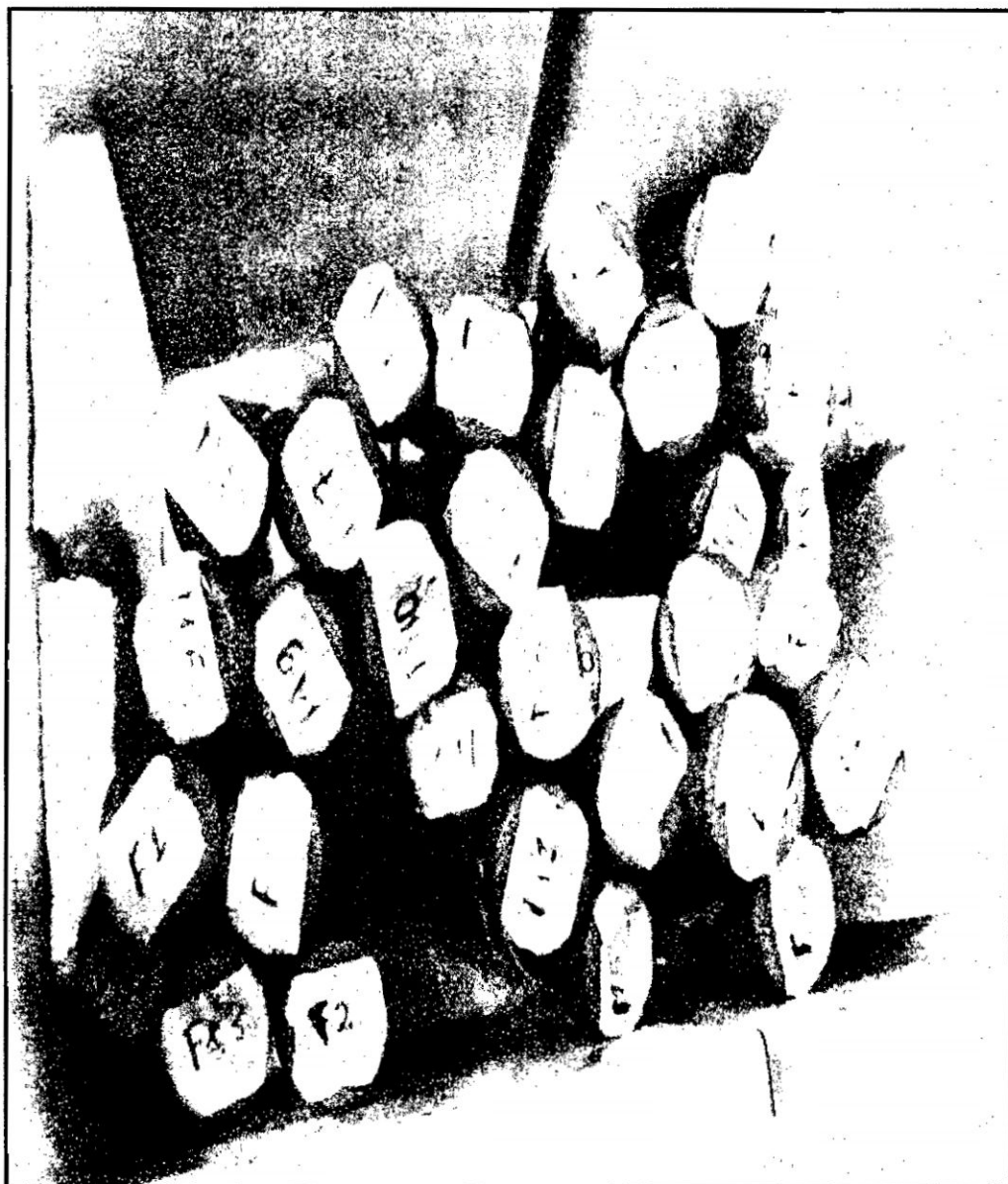
**Anexo 16.** Etapa de medición de los volúmenes de orina excretados en cada hora, después de haber administrado las dosis correspondientes a cada animal de experimentación en sus correspondientes grupos, Ayacucho 2016.



**Anexo 17.** Volumen promedio de orina obtenidos de los cobayos sometidos a tratamiento con *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho.2016.

Valores promedio del volumen de orina (mL)						
Tiempo (horas)	Agua destilada	Furosemida 20 mg/kg	Espironolac tona 25 mg/kg	Extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl."sacato"		
				100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
1	3,4±0,2	7,1±1,1	4,1±0,4	4,0±0,3	8,6±0,8	8,8±0,8
2	3,8±0,2	13,0±1,1	10,8±0,5	8,2±0,6	9,9±1,0	13,6±0,8
3	5,2±0,5	20,6±1,1	12,2±1,1	9,6±0,7	12,2±0,6	15,3±0,6
4	8,2±0,1	21,1±1,5	15,1±0,7	8,8±0,6	11,4±1,0	11,4±1,0

**Anexo 18.** Preparación de la muestra para la determinación de sodio y potasio, en el equipo para dosar cationes en el hospital Nacional Arzobispo Loayza, Ayacucho 2016.





**Anexo 20. Resultados de la cuantificación de K<sup>+</sup> en las muestras de orina recolectada en el tratamiento por extracto a una concentración de 400 mg/kg de peso de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza, Ayacucho 2016.**

**SERVICIO ACADÉMICO ASISTENCIAL - FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.M. SAN MARCOS - SEDE: HOSPITAL LOAYZA  
LABORATORIO SAN FERNANDO**

<b>PACIENTE :</b> M15, M15					<b>N°</b>
<b>TELEFONO :</b> -	<b>EDAD :</b> -				<b>ORDEN TRABAJO</b>
<b>T. ORDEN :</b> AMBULATORIO					<b>A120160016842</b>
<b>MEDICO :</b> -					<b>N° HOJA A719</b>
<b>PROCEDENCIA :</b> -					<b>22/02/2016 09:08:05 AM</b>
<b>EXAMENES REALIZADOS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>RANGO REFERENCIAL</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>METODO</b>	
<b>ELECTROLITOS EN ORINA AL AZAR:</b>					
CLORURO DE SODIO (Na)	95.2	50.0 - 220.0	ml/dl		
CLORURO DE POTASIO (K)	58.2	25.0 - 120.0	ml/dl		
CLORURO DE CALCIO (Ca)	126.2	120.0 - 250.0	ml/dl		

*[Handwritten signature]*  
 Dr. Luis Guillermo Rojas Rios  
 Director Laboratorio  
 22/02/2016



**Anexo 21.** Concentraciones promedio de sodio y potasio (mEq/L) en orina y razón  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  en los grupos experimentales, a las tres horas de administrar las muestras, Ayacucho 2016.

Tratamientos	Concentraciones de $\text{Na}^+$ mEq/L	Concentraciones de $\text{K}^+$ mEq/L	Razón $\text{Na}^+/\text{K}^+$
Blanco (agua destilada)	39,5	60,02	0,66
Furosemida 20 mg/kg	48,4	113,4	0,43
Espironolactona 25 mg/kg	86,12	45,52	1,89
Extracto 100 mg/kg	77,38	79,32	0,98
Extracto 200 mg/kg	75,12	66	1,14
Extracto 400 mg/kg	70,42	63,32	1,11

**Anexo 22.** Datos descriptivos de la excreción urinaria de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

Descriptivos

Excreción urinaria	N	Media	Desv. típico	Error típico	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
					Lím. inferior	Lím. superior			
					Blanco	5			26,7
Espironolactona 25 mg/kg	5	61,5	6,25	2,79	53,76	69,29	54,42	68,95	
Furosemida mg/kg	20	5	103,8	5,77	2,58	96,70	111,04	97,00	111,0
Extracto mg/kg	100	5	49,8	5,75	2,57	42,73	57,03	44,00	59,44
Extracto mg/kg	200	5	59,9	3,34	1,49	55,78	64,09	55,24	64,50
Extracto mg/kg	400	5	83,1	10,05	4,49	70,63	95,59	76,00	100,0
Total	30	64,18	25,39	4,63	54,70	73,67	23,68	111,0	

**Anexo 23.** Análisis de varianza (ANOVA) de la excreción urinaria de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

Anova de un factor

Excreción urinaria	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17810,596	5	3562,119	96,089	0,000
Dentro de grupos	889,702	24	37,071		
Total	18700,298	29			

**Anexo 24.** Comparación de homogeneidad de medias para la excreción urinaria mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

Excreción urinaria		N	Subconjunto para alfa = 0,05				
			1	2	3	4	5
HSD	Blanco	5	26,8				
Tukey <sup>a</sup>	Extracto 100 mg/kg	5		49,88			
	Extracto 200 mg/kg	5		59,93			
	Espironolactona 25 mg/kg	5		61,5			
	Extracto 400 mg/kg	5			83,1		
	Furosemida 20 mg/kg	5				103,9	
	Sig.		1,00	,058	1,00	1,0	
Duncan <sup>a</sup>	Blanco	5	26,8				
	Extracto 100 mg/kg	5		49,88			
	Extracto 200 mg/kg	5			59,9		
	Espironolactona 25 mg/kg	5			61,5		
	Extracto 400 mg/kg	5				83,12	
	Furosemida 20 mg/kg	5					103,9
	Sig.		1,00	1,000	,683	1,0	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Anexo 25.** Datos descriptivos de la acción diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona, Ayacucho 2016.

Descriptivos

Acción diurética	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Espironolactona 25mg/kg	5	2,30	0,25	0,11	1,99	2,61	2,04	2,66
Furosemida 20 mg/kg	5	3,91	0,52	0,23	3,25	4,56	3,26	4,69
Extracto 100 mg/kg	5	1,86	0,17	0,07	1,64	2,08	1,62	2,07
Extracto 200 mg/kg	5	2,25	0,30	0,13	1,87	2,63	1,86	2,72
Extracto 400 mg/kg	5	3,14	0,64	0,28	2,34	3,93	2,58	4,22
Total	25	2,69	0,84	0,16	2,34	3,04	1,62	4,69

**Anexo 26.** Análisis de varianza (ANOVA) de la acción diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona, Ayacucho 2016.

Anova de un factor

Acción diurética	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13,551	4	3,388	19,301	0,000
Dentro de grupos	3,510	20	0,176		
Total	17,061	24			

**Anexo 27.** Comparación de homogeneidad de medias para la acción diurética mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona, Ayacucho 2016.

Acción diurética	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
HSD Tukey <sup>a</sup>	Extracto de 100 mg/kg	5	1,87	
	Extracto de 200 mg/kg	5	2,26	
	Espironolactona 25 mg/kg	5	2,30	
	Extracto de 400 mg/kg	5		3,14
	Furosemida 20 mg/kg	5		3,91
	Sig.		0,48	0,06
Duncan <sup>a</sup>	Extracto de 100 mg/kg	5	1,87	
	Extracto de 200 mg/kg	5	2,26	
	Espironolactona 25 mg/kg	5	2,30	
	Extracto de 400 mg/kg	5		3,14
	Furosemida 20mg/kg	5		3,91
	Sig.		,133	1,00

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Anexo 28.** Datos descriptivos de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida, Ayacucho 2016.

**Descriptivos**

Actividad diurética	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Extracto 100 mg/kg	5	0,482	0,074	0,033	0,391	0,573	0,44	0,61
Extracto 200 mg/kg	5	0,578	0,019	0,009	0,554	0,602	0,55	0,60
Extracto 400 mg/kg	5	0,796	0,072	0,032	0,707	0,885	0,70	0,90
Total	15	0,619	0,147	0,038	0,537	0,700	0,44	0,90

**Anexo 29.** Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida, Ayacucho 2016.

Anova de un factor

Actividad diurética	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,259	2	0,129	35,56	0,000
Dentro de grupos	0,044	12	0,004		
Total	0,303	14			

**Anexo 30.** Comparación de homogeneidad de medias para la actividad diurética mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida, Ayacucho 2016.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
HSD Tukey <sup>a</sup>	Extracto de 100 mg/kg	5	0,482	
	Extracto de 200 mg/kg	5	0,578	
	Extracto de 400 mg/kg	5		0,796
	Sig.		0,065	1,00
Duncan <sup>a</sup>	Extracto de 100 mg/kg	5	0,482	
	Extracto de 200 mg/kg	5		0,578
	Extracto de 400 mg/kg	5		0,796
	Sig.		1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Anexo 31.** Datos descriptivos de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona, Ayacucho 2016.

Descriptivo

Actividad diurética	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Extracto 100 mg/kg	5	0,81	0,091	0,040	0,701	0,927	0,67	0,89
Extracto 200 mg/kg	5	0,98	0,122	0,054	0,830	1,134	0,80	1,09
Extracto 400 mg/kg	5	1,36	0,207	0,092	1,105	1,619	1,11	1,59
Total	15	1,05	0,274	0,070	0,901	1,205	0,67	1,59

**Anexo 32.** Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la espirolactona, Ayacucho 2016.

Anova de un factor

Actividad diurética	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,788	2	0,394	17,909	0,000
Dentro de grupos	0,264	12	0,022		
Total	1,052	14			

**Anexo 33.** Comparación de homogeneidad de medias para la actividad diurética mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona, Ayacucho 2016.

	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
			1	2
HSD Tukey <sup>a</sup>	Extracto de 100 mg/kg	5	0,814	
	Extracto de 200 mg/kg	5	0,982	
	Extracto de 400 mg/kg	5		1,362
	Sig.		0,214	1,000
Duncan <sup>a</sup>	Extracto de 100 mg/kg	5	0,814	
	Extracto de 200 mg/kg	5	0,982	
	Extracto de 400 mg/kg	5		1,362
	Sig.		0,099	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Anexo 34.** Test de normalidad para comparar los niveles de sodio y potasio excretados en la orina de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona, Ayacucho 2016.

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		Shapiro-Wilk			
Pruebas de normalidad para Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup>		Estadístico	GL	Sig.	Estadístico	GL	Sig.
Conc. de Na <sup>+</sup>	Espironolactona 25 mg/kg	0,19	5	0,20 <sup>*</sup>	0,98	5	0,94
	Blanco	0,24	5	0,20 <sup>*</sup>	0,89	5	0,37
mEq/L	Furosemida 20 mg/kg	0,29	5	0,20	0,90	5	0,41
	Extracto 100mg/kg	0,30	5	0,16	0,92	5	0,52
	Extracto 200mg/kg	0,19	5	0,20 <sup>*</sup>	0,98	5	0,95
	Extracto 400mg/kg	0,24	5	0,20	0,94	5	0,69
Conc. de K <sup>+</sup>	Espironolactona 25 mg/kg	0,30	5	0,17	0,80	5	0,09
mEq/L	Blanco	0,18	5	0,20 <sup>*</sup>	0,95	5	0,76
	Furosemida 20 mg/kg	0,24	5	0,20 <sup>*</sup>	0,90	5	0,41
	Extracto 100mg/kg	0,24	5	0,20 <sup>*</sup>	0,89	5	0,38
	Extracto 200mg/kg	0,40	5	0,01	0,74	5	0,02
	Extracto 400mg/kg	0,35	5	0,04	0,79	5	0,07

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 35.** Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de sodio y potasio en tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona, Ayacucho 2016.

Anova de un factor		Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Conc. de Na <sup>+</sup> mEq/L	Entre grupos	8244,46	5	1648,89	2,186	0,09
	Dentro de grupos	18101,77	24	754,24		
	Total	26346,23	29			
Conc. de K <sup>+</sup> mEq/L	Entre grupos	13601,70	5	2720,34	3,080	0,03
	Dentro de grupos	21198,61	24	883,28		
	Total	34800,31	29			

**Anexo 36.** Comparación de homogeneidad de medias para la concentración de sodio eliminado en la orina mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona, Ayacucho 2016.

mEq/L de Na <sup>+</sup>		N	Subconjunto para alfa = 0,05	
			1	2
HSD Tukey <sup>a</sup>	Blanco	5	39,50	
	Furosemida 20 mg/kg	5	48,40	
	Extracto 400mg/kg	5	70,42	
	Extracto 200mg/Kg	5	75,12	
	Extracto 100mg/Kg	5	77,38	
	Espironolactona 25 mg/kg	5	86,12	
	Sig.		0,12	
Duncan <sup>a</sup>	Blanco	5	39,50	
	Furosemida 20 mg/kg	5	48,40	48,40
	Extracto 400mg/kg	5	70,42	70,42
	Extracto 200mg/Kg	5	75,12	75,12
	Extracto 100mg/Kg	5	77,38	77,38
	Espironolactona 25 mg/kg	5		86,12
	Sig.		0,060	0,06

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Anexo 37.** Comparación de homogeneidad de medias para la concentración de potasio eliminado en la orina mediante las pruebas de Tukey y Duncan para tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona, Ayacucho 2016.

Conc. de K <sup>+</sup> mEq/L	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	
HSD Tukey <sup>a</sup>	Espironolactona 25mg/kg	5	45,52	
	Blanco	5	60,02	60,02
	Extracto 400 mg/kg	5	63,32	63,32
	Extracto 200 mg/Kg	5	66,00	66,00
	Extracto 100 mg/Kg	5	79,32	79,32
	Furosemida 20 mg/kg	5		113,40
	Sig.		0,49	0,09
Duncan <sup>a</sup>	Espironolactona 25 mg/kg	5	45,52	
	Blanco	5	60,02	
	Extracto 400 mg/kg	5	63,32	
	Extracto 200 mg/Kg	5	66,00	
	Extracto 100 mg/Kg	5	79,32	79,3200
	Furosemida 20 mg/kg	5		113,4000
	Sig.		0,12	0,08

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

## Anexo 38. MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato" Cavia en porcellus "Cobayos" Ayacucho 2014.	¿Tendrá actividad diurética el extracto hidroalcohólico de pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato" comparado con la furosemida y espirolactona?	<p>Objetivo General:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato".</li> </ul> <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato".</li> <li>Evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato" a 100, 200, 400 mg/kg de furosemida comparada con la espirolactona.</li> <li>Cuantificar los niveles de sodio y potasio excretados en la orina de los cobayos sometidos al experimento.</li> </ul>	<p>El extracto hidroalcohólico de pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato" tiene actividad diurética comparada con la furosemida, y espirolactona.</p>	<p>Variable independiente</p> <p>La concentración del extracto hidroalcohólico de pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato".</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Concentración a 100, 200, 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico de pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato".</li> </ul>	<p>Tipo de Investigación: Nivel explicativo</p> <p>Población y Muestra: 500 g de los pseudobulbos de <i>Odontoglossum bicolor</i> Lindl. "Sacato", recolectada en Distrito Regional Ayacucho.</p> <p>Unidad experimental: 30 Cavia porcellus "cobayos" de la misma edad de 350 a 450 g.</p> <p>Actividad diurética: Se dejan en ayunas unas 18 horas antes de la prueba, sin ser privadas de agua, se les administra por vía oral mediante una sonda nasogástrica 50 mL/kg de peso una solución de cloruro de sodio 0.9% y después de 15 minutos de hidratación se les pesa y administra el producto se estudia y se les coloca en la jaula de diuresis, recolectando a partir de ese momento la orina cada hora por un período de cuatro horas.</p> <p>Análisis estadístico: Con los datos obtenidos se realizó el análisis de medias y desviaciones estándar de cada uno de los parámetros (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% (<math>p &lt; 0.05</math>) para determinar las diferencias significativas entre los grupos tratados con el extracto y los grupos control. Las comparaciones entre cada tratamiento a través de la prueba de HSD de Tukey y utilizó el programa SPSS versión 23.0</p>

# Actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. “sacato” en *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho 2014.

Diego Armando Cabana Conde<sup>1</sup>, Johnny Aldo Tinco Jayo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

## RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. “sacato” y dosaje de electrolitos en la orina, se concretizó en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de septiembre 2015 a febrero 2016. La muestra se recolectó en el Distrito de San Salvador de Quije, provincia de Sucre, Región Ayacucho, ubicado a una altitud de 3200 msnm durante los meses de septiembre a octubre del 2015. Los metabolitos secundarios se identificaron según el método de Miranda y Cuéllar 2000. La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik y col; en la que se empleó 30 cobayos machos, a los cuales se administró agua destilada 25 mL/kg, furosemida 20 mg/kg, espironolactona 25 mg/kg, y 100, 200 y 400 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. “sacato” respectivamente. Luego de administrada las dosis correspondientes se sometieron en la jaula de diuresis por un periodo de cuatro horas midiendo el volumen excretado en cada hora. Los metabolitos secundarios encontrados fueron: los flavonoides, catequinas, compuestos fenólicos, taninos y saponinas. El volumen de orina excretado por los grupos experimentales superó al excretado por el agua destilada. La actividad diurética se expresa de acuerdo a la escala como moderada a la dosis de 400 mg/kg de peso de  $0,8 \pm 0,07$  de actividad diurética comparada al estándar la furosemida y alta de  $1,36 \pm 0,2$  de actividad diurética en relación al estándar la espironolactona. Con respecto a las concentraciones de sodio no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) y las concentraciones de potasio se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Se concluye que el extracto hidroalcohólico posee actividad diurética moderada en relación a furosemida y es un ahorrador de potasio comparado con la espironolactona, el efecto es dosis dependiente.

**Palabras clave:** *Odontoglossum bicolor* Lindl., extracto hidroalcohólico, actividad diurética, niveles de sodio y potasio en la orina

## ABSTRACT

The work of investigation was realized by the aim to determine the activity diuretic of the extract hidroalcohólico of the pseudobulbs of two-color *Odontoglossum* Lindl. “Sacato” and dosage of electrolytes in the urine, concretized in Farmacognosia's laboratories and Pharmacology of the Vocational school of Drugstore and Biochemistry, of the Faculty of Sciences of the Health of the National University of Huamanga's St Kitts, during September, 2015 to February, 2016. The sample was gathered in the District of Quije's San Salvador, province of Sucre, Region Ayacucho, located to an altitude of 3200 msnm during September to October, 2015. The secondary metabolitos identified according to the method of Miranda and Cuéllar 2000. The activity diuretica decided using Naik's method and cabbage; in that one used 30 guinea-pigs males, to which distilled water managed the affairs 25 mL/kg, furosemida 20 mg/kg, espironolactona 25 mg/kg, and 100, 200 and 400 mg/kg of weight of the extract hidroalcohólico of the extract hidroalcohólico of the pseudobulbs of two-color *Odontoglossum* Lindl. “Sacato” respectively. After administered the corresponding doses surrendered in the cage of diuresis for a period of four hours measuring the volume excreted at every hour. The secondary opposing metabolitos were: the flavonoides, catequinas, phenolic compounds, tannins and saponinas. The volume of urine excreted by the experimental groups overcame the excreted one for the distilled water. The activity diuretica expresses to itself in agreement to the scale as moderated to the dose of 400 mg/kg of weight of  $0,8 \pm 0,07$  of activity diuretica compared to the standard the furosemida and discharge of  $1,36 \pm 0,2$  of activity diuretica in relation to the standard the espironolactona. With regard to the concentrations of sodium statistically significant differences were not demonstrated ( $p > 0,05$ ) and the concentrations of potassium demonstrated statistically significant differences ( $p < 0,05$ ). One concludes that the extract hidroalcohólico possesses activity diuretica moderated in relation to furosemida and is a saver of potassium compared with the espironolactona, the effect is a dependent dose.

**Key words:** two-color *Odontoglossum* Lindl., activity diuretica, levels of sodium and potassium in the urine

## INTRODUCCIÓN

El Perú es un país muy privilegiado con una geografía muy variada y un clima muy diversificado que posee un extraordinario potencial de recursos naturales de origen vegetal como plantas medicinales. El 80% de la población mundial recurre a estas plantas medicinales para tratar las diversas enfermedades, según nos señala la Organización Mundial de la Salud, porque son más accesibles y más baratos que los productos farmacéuticos.<sup>1</sup>

Las plantas han sido desde la antigüedad, un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y curación de sus enfermedades, en nuestro país, muchas de estas especies vegetales están siendo utilizadas en la medicina tradicional, sin mayor respaldo científico. Esta realidad nos impulsa a estudiar e investigar un sin número de especies nativas sobre todo aquellos metabolitos secundarios responsables de las propiedades curativas de estas especies, para lo cual hacemos uso de disciplinas como la Fitoquímica y la Farmacología.<sup>2</sup> Dentro de los múltiples usos las plantas tienen el aspecto curativo o medicinal donde se produce un efecto farmacológico debido a la presencia de diversos metabolitos secundarios que son capaces de ingresar al interior del organismo, interactuar y modificar la estructura del receptor para luego alterar varios procesos fisiológicos en el organismo, causando la prevención, alivio, etc.<sup>3</sup> El *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", es la especie más representativa de la familia orchidaceae, muy apreciada por sus flores, por poseer abundante agua y nutrientes en su estructura vegetativa (pseudobulbos). El poblador rural alto andino ha venido utilizando de generación en generación de manera empírica como alimento, medicinal y ornamental, en los últimos años con la venta de estas en los mercados locales por los vendedores de hierbas con fines medicinales, ya que esta planta representa un tratamiento alternativo frente el difícil acceso a los medicamentos, para controlar la presión alta, dolor de cabeza, diabetes, como depurativo del sistema circulatorio (diurético), etc (Anexo 4 y 5). En la UNSCH, se han realizado muchos estudios de plantas con actividad diurética, sin embargo no existe al presente ningún estudio de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la actividad diurética que validen las actividades terapéuticas atribuidas a la especie, algunos referencias bibliográficas describen como una planta silvestre en los regiones de Ayacucho, Puno, Cusco, Chachapoyas.<sup>4</sup> El conocimiento empírico, la práctica tradicional sobre el uso con fines medicinales y su influencia en la fisiología renal, se requiere realizar estudios de investigación para contribuir con la población que las utiliza, dando a conocer su potencial terapéutico para que puedan ser utilizadas de forma adecuada y segura. Basado en estos antecedentes se decide ejecutar el presente trabajo, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

### Objetivo General:

Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" y dosaje de electrolitos en la orina.

### Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los

pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".

- Evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" a 100, 200 y 400 mg/kg de peso, comparar con la furosemida y espirolactona.
- Cuantificar los niveles de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> excretados en la orina de los cobayos sometidos al experimento.

## MATERIALES Y METODOS

### Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacología y Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de septiembre 2015 a febrero 2016.

### Materiales

**Población:** Los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", fueron recolectados de acuerdo a los procedimientos establecidos por Villar del Fresno<sup>5</sup>, del Distrito de San Salvador de Quije, provincia de Sucre, región Ayacucho, ubicado a una altitud de 3200 msnm, durante los meses de septiembre a octubre 2015

**Muestra:** 500 g de pseudobulbos secos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".

**Selección:** se cosechó por conveniencia la parte aérea de la planta en los primeros días del mes de octubre, durante su estado vegetativo, etapa en que las transformaciones metabólicas alcanzan su máxima intensidad, exactamente antes y durante la floración a las cinco de la tarde luego de que la planta haya realizado la fotosíntesis y acumulado suficientes metabolitos, dando mayor importancia a los pseudobulbos enteros que presenten buenas condiciones y que no estén dañados ya que éstos fueron empleados para su estudio en el laboratorio.

Para la exploración e identificación botánica se seleccionó la parte aérea de la planta de preferencia raíz, pseudobulbos, hojas, inflorescencia, estos fueron trasladados al *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.N.S.C.H. Los pseudobulbos seleccionados fueron cortados en forma de láminas para facilitar el secado, se extendieron en una habitación ventilada sin acceso a radiación solar, extendidos sobre papel periódico para su secado, removiendo diariamente para evitar su descomposición y cambiando cada 24 horas el papel de soporte por un periodo de catorce días.

**Unidad experimental:** 30 *Cavia porcellus* "cobayos" de la misma edad, de 350 a 450 g de masa corporal y de sexo machos, que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) – Ayacucho.

### Métodos

**Obtención del extracto de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".**

Se pesó 500 g de muestra seca entera y se transfirió en un recipiente ámbar de boca ancha, luego se mezcló con el solvente hidroalcohólico 70° hasta conseguir que el solvente esté por encima de la muestra en aproximadamente 5 cm de diferencia, luego se maceró por siete días. Durante el tiempo de maceración se agitó el frasco periódicamente para que el solvente se distribuya

homogéneamente en la muestra ya que cuanto mayor sea la relación entre el líquido extractivo y la droga, será más favorable el rendimiento.

Después de la maceración se procedió a filtrar al vacío en un embudo Buchner y se llevó a sequedad en baño maría, hasta obtener un extracto seco, que fue almacenado en un frasco ámbar y conservado en refrigeración hasta su uso en los ensayos fitoquímico y farmacológicos.

#### Identificación fitoquímica

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar.<sup>6</sup>

#### Determinación de la actividad diurética

La metodología que se empleó para la determinación de la actividad diurética fue basada en el método utilizado por Naik y col, Luna, (1999).<sup>7</sup>

#### Procedimiento experimental

En este ensayo se utilizaron 30 cobayos machos con un peso de 350 a 450 g y se procedió de la siguiente manera:

- Los animales fueron adaptados durante siete días a las condiciones experimentales con una temperatura ambiental y ciclos de luz/ oscuridad de 12h/12h.
- Se suministraron alimentación controlada y agua potable apto para consumo *ad libitum*. Se alojó en jaulas de polietileno con rejilla metálica a razón de cinco animales por jaula.
- Se privó de alimentos 18 horas antes de iniciar el experimento y de agua una hora antes.
- Los animales fueron marcados, pesados y distribuidos aleatoriamente en seis grupos de cinco animales para cada grupo.
- Todos los animales fueron hidratados con solución salina fisiológica al 0,9% en dosis de 50 ml/kg de peso, por vía oral mediante una sonda nasogástrica y después de 15 minutos de hidratación nuevamente se procedió a pesar y se les administró el blanco (agua destilada 25 mg/kg de peso), los fármacos (furosemida y espirolactona), el extracto hidroalcohólico a las dosis a evaluar.
- Seguidamente se sometió cada uno de los animales en las jaulas de diuresis y se activó el cronómetro y midió el volumen de orina excretada a 1, 2, 3 y 4 horas.

#### Diseño de investigación

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

Grupo I: Tratado con agua destilada, a una dosis de 25 mL/kg, blanco.

Grupo II: Tratado con furosemida en dosis de 20 mg/kg de peso, control referencial uno.

Grupo III: Tratado con espirolactona en dosis de 25 mg/kg de peso, control referencial dos.

Grupo IV: Administrado con el extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/kg de peso.

Grupo V: Administrado con el extracto hidroalcohólico a dosis de 200 mg/kg de peso.

Grupo VI: Administrado con el extracto hidroalcohólico a dosis de 400 mg/kg de peso.

La orina se recolectó cada hora, hasta la cuarta hora en todo los casos en una probeta graduada. Con los datos

del volumen de orina se calcula la excreción volumétrica urinaria, acción diurética y actividad

diurética.<sup>8</sup> Se calcularon utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Excreción urinaria} = \frac{\text{Orina producida}}{\text{Cloruro de sodio administrada}} \times 100$$

$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Excreción urinaria grupo tratado}}{\text{Excreción urinaria grupo control}}$$

$$\text{Actividad diurética} = \frac{\text{Acción diurética}}{\text{Acción diurética fármaco patrón}}$$

Escala para actividad diurética: Alta: AD  $\geq 0,90$ , Moderada: AD (0,89 – 0,70), Baja: AD (0,69 – 0,50), Nula  $\leq 0,50$ .<sup>8</sup>

#### Cuantificación de niveles de electrolitos sodio y potasio en orina.

Las concentraciones de sodio y potasio excretados en orina fueron medidas con la metodología del electrodo de ion selectivo (ISE) para cada grupo en estudio.

#### • Análisis de la muestra

Las muestras de orina recolectada en la tercera hora, de cada grupo de estudio es acondicionado cada uno en tubos de ensayo herméticamente sellados, señalados, refrigerado y transportado de inmediato para su respectivo cuantificación en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza, utilizando el analizador automático modelo EasyLyte Plus Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> Medica para el diagnóstico *in vitro*, empleando solución calibradora propio y automática del modelo. La orina fue diluida con diluyente de orina (Easylyte), a dilución inicial 1:10 utilizando diluciones mayores o menores según concentración.

#### Análisis de datos

Con los datos obtenidos se calculó las medias y desviaciones estándar de cada uno de los parámetros evaluados: excreción diurética, acción diurética, actividad diurética y contenido de sodio y potasio en la excreción urinaria para cada grupo experimental se comparó 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 los grupos control. Se usó comparaciones múltiples entre cada tratamiento a través de la prueba de HSD de Tukey y Duncan para realizar estos análisis se utilizó el programa SPSS versión 23,0.

## RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Flavonoides	Shinoda	+++	Fase amilca de color amarillo a rojo
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma
Compuestos fenólicos y/o taninos	FeCl <sub>3</sub>	+++	Coloración marrón oscuro
Catequinas	Catequinas	+++	Verde camelita en UV

Leyenda: (+): Escaso (++) Regular (+++): Abundante

Tabla 2: Resultados del análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Características organoléptico	Color	Marrón oscuro
	Olor	<i>Sui generis</i>
	Sabor	Agradable
Solubilidad	Agua	Soluble
	Alcohol	Soluble
	Cloroformo	Muy soluble
pH	Potenciométrico	5,46

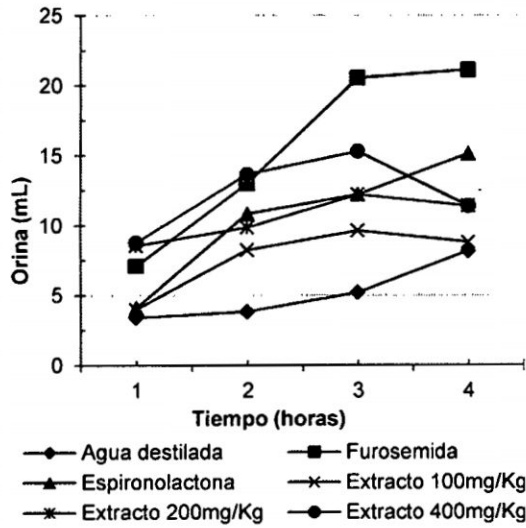


Figura 5. Variación del volumen promedio de orina acumulado en cada hora durante el experimento, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida, espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

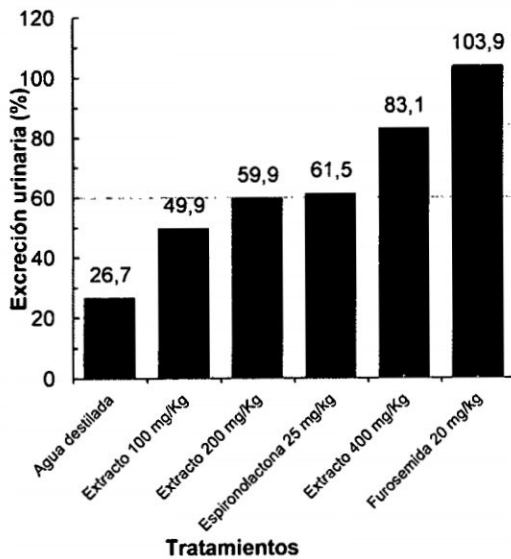


Figura 6. Porcentaje de la excreción urinaria de los grupos experimentales acumuladas, a las tres horas, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", Ayacucho 2016.

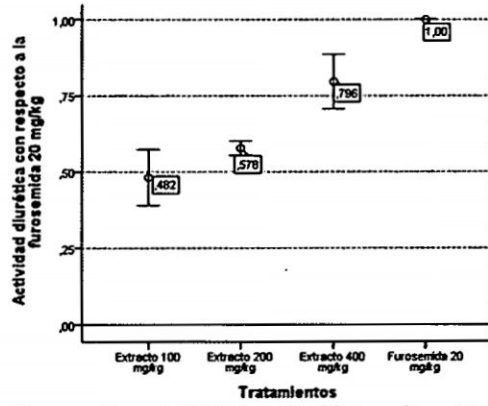


Figura 7. Actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida, Ayacucho 2016.

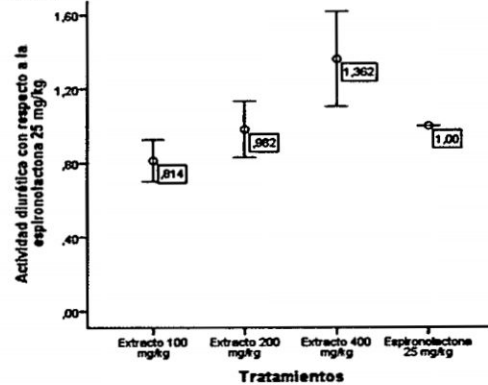


Figura 8. Actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la espironolactona, Ayacucho 2016.

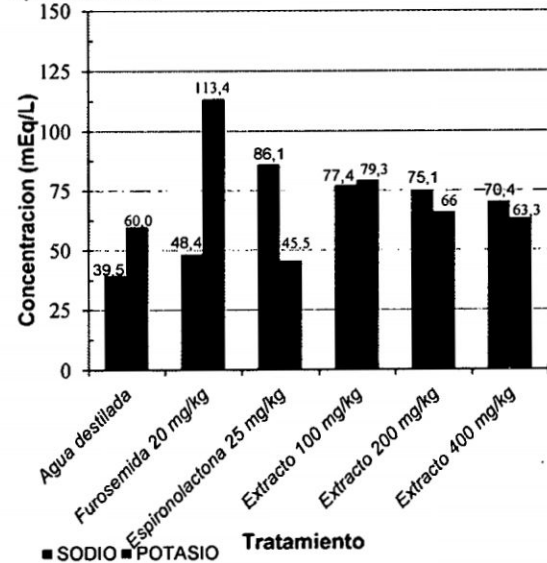


Figura 9. Niveles de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> promedio excretados en la orina acumulada a las tres horas, por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", furosemida y espironolactona y blanco, Ayacucho 2016.

### DISCUSIÓN

La orquídea *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" es utilizada como alimento y como recurso medicinal.

En el presente trabajo, se realizó la prueba de identificación fitoquímica según la metodología de Miranda y Cuéllar<sup>3</sup>, encontrándose la presencia de catequinas, flavonoides, fenoles, taninos y saponinas (Tabla 1), se debe precisar la existencia de poca bibliografía específica que facilitaría una comparación. Sin embargo, de los pocos estudios realizados con esta especie vegetal los hallazgos son similares en lo que a componentes activos se refiere, así Neyra (2009); encontró cantidades moderadas de flavonoides, compuestos fenólicos en especies de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae).<sup>9</sup>

En la Tabla 2, se presentan los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico con un color marrón oscuro, olor a *sui generis*, un sabor agradable, soluble en agua, etanol y muy soluble en cloroformo, pH de 5,46. La solubilidad depende de la forma en que se encuentran: aglicones libres que son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en disolventes orgánicos ya sean polares o apolares. De manera general, las plantas con propiedades diuréticas se clasifican desde el punto de vista químico en: drogas con saponósidos que poseen propiedades tensioactivas y conllevan a un aumento de la permeabilidad de la membrana filtrante glomerular acompañado de una congestión local, drogas con flavonoides que afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello complementado por el efecto vaso relajante que mejora la microcirculación a nivel de todo el organismo.<sup>10</sup> No existe estudios farmacológicos y fitoquímicos de la especie *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", para comparar y distinguir los metabolitos secundarios, se hace referencia a otros géneros muy cercanos como el *Prosthechea michuacana*, *Cymbidium goerengii* y *Cymbidium sp.*, que son especies con estudios científicos validados en el aspecto farmacológico, fitoquímica, botánico y agronómico, es cierto que existen diferencias entre las especies, géneros, familias u otros factores de donde se haya recolectado la planta.<sup>3,9,11,12</sup> Para evaluar la actividad diurética *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", se utilizó la furosemida y espironolactona como referencia ya que son fármacos diuréticos de máxima eficacia y el otro de baja eficacia a la vez ahorrador de potasio. Para ello se utilizó el método de Naik y col, Hugo (1999)<sup>7</sup> siendo este el más utilizado, adecuado y económico para la realización de este tipo de trabajo de investigación, los animales de experimentación fueron 30 cobayos *cavia porcellus* machos de 350 a 450 g, proveniente de la INIA (Anexo 7). La administración de una carga hidrosalina (solución fisiológica 0,9%) uniformiza y mejora la respuesta de la sustancia probada. El exceso de agua y electrolitos simula una situación de edema, razón por la cual en el presente trabajo se administró solución salina fisiológica a todos los animales de experimentación en el correspondiente estudio farmacológico.<sup>10,13</sup>

El inicio de acción diurética del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" es ligeramente rápido con respecto a los estándares furosemida y espironolactona, máximo entre la tercera hora y disminuida en la última hora de

tratamiento, lo cual puede obedecer a los factores farmacocinéticos o farmacodinámicos de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato".

En la Figura 5, se observa la variación del volumen promedio de orina acumulado en función del tiempo por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", resulta que el volumen promedio de orina eliminado a la tercera hora por efecto de la furosemida es de 20,56±1,1 mL, seguido la dosis de 400 mg/kg de peso es de 15,3±0,6 mL, la espironolactona 12,22±1,1 mL, extracto de 200 mg/kg de peso 12,22±0,6 mL, extracto de 100 mg/kg de peso 9,64±0,7 mL y blanco (agua destilada) 5,2±0,5 mL (Anexo 17). En el cual a medida que pasa el tiempo va aumentando la eliminación de orina y nos da un gráfico de dosis respuesta, la furosemida es mayor a los diferentes tratamientos, seguido de la muestra a 400 mg/kg de peso en comparación con el grupo, espironolactona, extracto de 200 mg/kg de peso, extracto de 100 mg/kg de peso y control negativo al que se le administró agua destilada, con estos resultados observamos que los extractos son óptimos a la tercera hora del inicio de la administración.

En la Figura 6, se observa el histograma de frecuencias, observando que la excreción urinaria expresado en porcentaje se halla dividiendo el volumen de orina excretado entre el volumen de líquido administrado multiplicado por cien, de este modo se obtiene el resultado en porcentaje de furosemida igual a 103,8% EU, siendo este con mayor excreción urinaria en comparación al resto de los grupos de tratamientos, la dosis de 400 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", tiene un porcentaje de 83,1% EU, espironolactona 61,5% EU, extracto de 200 mg/kg de peso 59,9% EU, extracto de 100 mg/kg de peso 49,8% EVU y blanco 26,7% EU, apreciándose que a las tres horas de administradas las sustancias ensayadas en los grupos controles positivos y en los grupos tratados el porcentaje de orina excretada supera a lo excretado por el grupo control negativo (agua destilada) lo cual es una medida de la capacidad de las sustancias ensayadas de facilitar la excreción urinaria de agua y electrolitos (Anexo 22). El análisis de varianza (Anexo 23) demuestra las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), para confirmar las diferencias se recorre a la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 24), en los cuales grupos experimentales tratados con el extracto a dosis de 400 mg/kg muestran resultados estadísticamente significativos al ser comparados con los resultados de los grupos experimentales control negativo (agua destilada) y el control positivo (furosemida), sin embargo al ser comparados con el grupo experimental control positivo la espironolactona no hay diferencias estadísticamente significativas, por lo que la excreción urinaria de los extractos estudiados a dosis de 100 y 200 mg/kg de peso es comparable con la excreción urinaria provocada por la espironolactona. Al obtener los resultados detallados procedemos a comparar nuestros resultados con otras investigaciones, en otras plantas, en otros lugares de investigación y diferentes modelos biológicos. Para evaluar el efecto diurético a diferentes niveles de dosis, se

puede apreciar que muy pocas veces se ha encontrado una correlación positiva entre la dosis, tiempo y el efecto. En estudios realizados en extractos hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaelum tubeosum* "mashua" en ratas Ayacucho 2006, al evaluar la actividad diurética *in vivo* de extractos acuosos, de hojas y corteza, de *Dichrostachys cinerea* L. Wight & Arn, Santa Clara 2010, efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R. & P. "qefioa", Ayacucho 2012<sup>14,10,15</sup>, donde el efecto fue dosis dependiente, debido a que la excreción de orina de los grupos tratados a la dosis de 500 mg/kg, 800 mg/kg y 400 mg/kg de peso fue más alto que cuando se trataron con la dosis de 250 mg/kg, 400 mg/kg y 200 mg/kg de peso. Lo mismo sucedió en la investigación, el grupo tratado a 400 mg/kg de peso excretó mayor volumen a diferencia que a 200 y 100 mg/kg de peso que fue menor, esto se debe a que el extracto hidroalcohólico es dosis dependiente.

La actividad diurética relaciona el volumen de orina excretado por los grupos experimentales tratados con extractos hidroalcohólico de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" y el volumen de orina excretado por los grupos experimentales controles positivos (furosemida y espironolactona), los resultados obtenidos al evaluar la actividad diurética de los extractos en relación con los diuréticos de referencias furosemida y espironolactona, son mostrados en la (Anexo 28 y 31).

En la Figura 7, se presenta la actividad diurética (AD) por efecto del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos del *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", en relación a la furosemida como estándar, los extractos de 100; 200; 400 mg/kg de peso presenta una actividad diurética de  $0,48 \pm 0,07$ ;  $0,58 \pm 0,01$  y  $0,80 \pm 0,07$  respectivamente, la primera tiene nula actividad diurética, la segunda con baja actividad diurética y la última con moderada actividad diurética según la escala para la actividad diurética en relación al diurético de referencia la furosemida.<sup>8</sup> Algunos autores reportan la actividad diurética en relación a la furosemida 50% EU, 0,68 AD; 1,9 AD y 67,42% AD a las concentraciones de 500, 800, 400 mg/kg de peso respectivamente<sup>14,10,8,15</sup>, todos estos trabajos se realizaron siguiendo el mismo método, algunos realizaron en diferente modelo biológico. Si es válido señalar que para dosis mayores de 200 mg/kg de peso de los extractos (pseudobulbos) la actividad diurética manifestada superó el 50% de la actividad diurética alcanzada por la furosemida.

En la Figura 8, en relación a espironolactona como el diurético de referencia, los extractos de 100; 200; 400 mg/kg de peso que presenta una actividad diurética a  $0,81 \pm 0,09$ ;  $0,98 \pm 0,1$ ;  $1,36 \pm 0,2$  respectivamente, la primera tiene una moderada actividad diurética y las dos últimas tiene una alta actividad diurética según la escala para la actividad diurética con respecto al diurético de referencia, este resultado se debe a que la espironolactona tiene un débil efecto diurético pero muy necesario como fármaco antihipertensivo.<sup>6,10</sup> El análisis de varianza para comparar las medias de la actividad diurética en relación al fármaco de referencia la furosemida (Anexo 29) se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), para confirmar las diferencias se recurre a la prueba de Tukey (Anexo 30), en el cual muestra dos

subgrupos, el extracto de 400 mg/kg de peso es diferente a los extractos de menor concentración que no manifestaron una actividad diurética comparable al diurético de referencia. La prueba de Duncan (Anexo 30), afirma tres subgrupos donde el extracto de 400 mg/kg de peso aparece con mayor rango promedio de la actividad diurética con respecto a los demás tratamientos de menor concentración que tienen un rango promedio menor de la actividad diurética. El análisis de varianza en relación al diurético de referencia la espironolactona (Anexo 32), se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), para confirmar las diferencias se recorre a la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 31), en el cual muestra dos subgrupos iguales para ambos pruebas estadísticas, el extracto de 400 mg/kg de peso es estadísticamente diferente a los grupos de tratamiento de 100, 200 mg/kg de peso, afirmando que el 400 mg/kg de peso tiene una actividad diurética alta en relación al diurético de referencia. Es probable que la actividad diurética de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato", se debe a las acciones combinadas de los flavonoides, catequinas, compuestos fenólicos y saponinas presentes en los pseudobulbos de dicha planta.

En la Figura 9, se observa los valores del electrolito sodio en mEq/L, por efecto diurético de los diferentes tratamientos. En el presente ensayo se reporta hasta 48,4 mEq/L en la orina del grupo que recibió furosemida, espironolactona 86,12 mEq/L, extracto de 400 mg/kg 70,42 mEq/L, extracto de 200 mg/kg 75,12 mEq/L, extracto de 100 mg/kg 77,38 mEq/L y blanco 39,5 mEq/L de eliminación promedio de sodio respectivamente. Algunos autores reportan para furosemida hasta 158 mEq/L; 98,27 mEq/L; 59,50 mEq/L; 78,81 mEq/L, y 63,3 mEq/L<sup>14,10,8,16,17</sup>, valor superior al nuestro posiblemente utilizaron modelos biológicos diferentes y cuantificados en tiempos distintos. El mecanismo de acción de la mayoría de los fármacos diuréticos es decrecer la reabsorción de ion sodio, esto produce el arrastre del equivalente osmótico del agua por lo tanto la excreción de sodio urinario es paralelo a la eliminación de fluido urinario.<sup>18</sup> La eliminación alta de potasio por parte de un diurético natriurético como la furosemida, en el trabajo de investigación se debe a que las concentraciones tubulares de potasio estimulan la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa en la membrana basolateral de las células del epitelio tubular, disminuyendo la concentración de sodio en la orina. Además el potasio altera el gradiente de voltaje transepitelial, favoreciendo la reabsorción de sodio.<sup>19</sup> En el análisis de varianza (Anexo 35), el grupo control la furosemida, espironolactona y el extracto vegetal no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) y no es necesario corroborar con la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 34), asumiendo que para el catión sodio el promedio de las medias de eliminación por efecto de la diuresis de todos los grupos de tratamientos se comportan estadísticamente homogéneos con un moderado efecto natriurético.

En la Figura 9, se muestra los valores de excreción promedio de potasio por efecto diurético de los diferentes tratamientos. Furosemida reporta hasta 113,4 mEq/L, espironolactona 45,52 mEq/L, extracto de 400 mg/kg 63,32 mEq/L, extracto de 200 mg/kg 66,0 mEq/L, extracto de 100 mg/kg 79,32 mEq/L y blanco 60,02 mEq/L de eliminación

promedio de potasio respectivamente. Algunos autores reportan que para furosemida la eliminación promedio de potasio es hasta 75 mEq/L; 39,43 mEq/L; 55,83 mEq/L; 47,79 mEq/L y 123,7 mEq/L<sup>14,10,8,16,17</sup>, en algunos reportes de los valores promedios de eliminación de potasio son superiores al nuestro, posiblemente el modelo biológico que lo utilizó fueron distintas en peso promedio. La eliminación alta del catión potasio en la orina de parte del fármaco estándar la furosemida se debe al aumento del paso de sodio hacia la parte final del túbulo distal y también como consecuencia el aumento de la actividad de la aldosterona, la cual facilita la eliminación de potasio.<sup>18</sup> El análisis de varianza (Anexo 35), sobre la eliminación de potasio en los grupos de tratamiento reporta que existe al menos una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), el cual fue evaluado con la prueba de Tukey y Duncan (Anexo 37). La prueba de Tukey demuestra que en el primer subgrupo los tres extractos, blanco y espirolactona son comparables en la eliminación de ion potasio por efecto de los tratamientos. Además se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en relación al diurético de referencia la furosemida. En el segundo subgrupo los tres extractos, la furosemida y blanco, tuvo una eliminación comparable del ion potasio por efecto de la diuresis. Además se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en relación al grupo control la espirolactona (ahorrador de potasio). La prueba de Duncan demuestra la diferencia de rangos entre los tratamientos, los grupos de tratamientos que poseen una disminuida eliminación del ion potasio por efecto de la diuresis se encuentran la espirolactona, los extractos 100, 200, 400 mg/kg de peso y el blanco. En el segundo grupo se encuentra los tratamientos con valores superiores, el extracto de 100 mg/kg de peso y la furosemida donde la eliminación del ion potasio por efecto de la diuresis es mayor en relación al extracto de 400 mg/kg de peso, extracto 200 mg/kg de peso, blanco y la espirolactona (ahorrador de potasio). Se aprecia en los extractos hidroalcohólico de *Odontoglossum bicolor* Lindl, tiene una disminución de la excreción del ion potasio al incrementar la dosis de los extractos administrados. Otro aspecto el cociente  $Na^+/K^+$  puede orientar el mecanismo diurético, para furosemida valores aproximados a (1), elimina igual ambos electrolitos; las tiazidas ( $< 1$ ) aumentan la excreción de potasio, y espirolactona ( $> 1$ ) ahorrador de potasio.<sup>8,19</sup> Comparado con este parámetro, los extractos de 400 mg/kg, 200 mg/kg resultaron ( $> 1$ ), la espirolactona (ahorrador de potasio) fue ( $> 1$ ) y el extracto de 100 mg/kg de peso resultó valores aproximados a 1 (Anexo 21). Se considera el extracto de 200, extracto de 400 mg/kg de peso posee un efecto kalurético comparable con el diurético de referencia la espirolactona (ahorrador de potasio), este comportamiento ahorrador de potasio es ejercida por las acciones de los flavonoides presentes en la planta, su mecanismo de acción es inhibir la síntesis biológica de la aldosterona, través de un efecto de eliminación de señalización de Angiotensina II, consecuencia de ello disminución en la síntesis y producción de la aldosterona que regula la eliminación de potasio y la reabsorción de sodio en el túbulo colector.<sup>20</sup> Se sostiene que las plantas

medicinales tienen efecto diurético, mediante un mecanismo de excreción acuosa, debido a una acción hemodinámica renal, resultado tanto un incremento en la circulación renal y por consiguiente incremento de la tasa de filtración glomerular, más que tubular como resultado la formación primaria de orina.<sup>20,21</sup> La filtración glomerular no requiere aporte energético, porque la fuerza impulsora en la presión arterial de la membrana filtrante es suficiente, por otro lado al aumentar el flujo sanguíneo renal como consecuencia del uso de diuréticos de origen vegetal, aumentaría también la filtración glomerular, a esto se le conoce como diuréticos acuáticos.<sup>22,23</sup> Los compuestos que pueden presentar un mecanismo de excreción acuosa, son los flavonoides y catequinas que son capaces de actuar como relajantes del músculo liso vascular por estimulación de la vía endotelial de Óxido Nítrico dependiente de su segundo mensajero  $GMP_c$  y compuestos fenólicos glicosilados tienen efectos inhibitorios del simportador  $Na^+-K^+-2Cl^-$  y  $ATPasa$ , lo cual impacta en el gradiente de concentración de  $Na^+/K^+$  en las células epiteliales del segmento tubular de la nefrona.<sup>20,24</sup> El trabajo de investigación aporta un alcance significativo en el campo de la fitoquímica, farmacológica y a la medicina tradicional que indica el uso del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl. "sacato" como agente diurético.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. UICN-OMS-WWF. Directrices sobre Conservación de plantas medicinales Organización Mundial de la Salud (OMS). [sede web]. Gland, Suiza. 1993. Disponible en: [http://www.urosario.edu.co/urosario\\_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf](http://www.urosario.edu.co/urosario_files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf)
2. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en amazonía peruana: Segunda edición, Lima – Perú, 2000.
3. Cervantes M. Evaluación Farmacológica de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae), especie de potencial agronómico. [Tesis de maestría en ciencias] Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional-México, 2008.
4. Dalstrom S. A Synopsis of the Genus *Cyrtorchilum* (Orchidaceae; Oncidiinae): Taxonomic Reevaluation and New Combination, Lindleyana [revista en internet]. 2013 [acceso 22 de marzo de 2016]; 16(2):56-80. Disponible en: <http://www.epidendra.org/LITERATURE/Dalstroem%202103%20%20Golden%20Cyrtorchilum/Dalstroem%2013%20%20Golden%20Cyrtorchilums.pdf>.
5. Villar del Fresno M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. Madrid España, 1999.
6. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio, farmacognosia y productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad la Habana. Habana – 2000.
7. Luna H. Estudio comparativo del efecto diurético de la furosemida en cobayos (*Cavia porcellus*) y ratas (*Rattus norvegicus*) [tesis pregrado]. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 1999.

8. Daud A, Habid N, Sánchez A. Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa) y *phrygilanthus acutifolius* (corpo). Estudio comparativo en ratas. Boletín Latinoamericana y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas [revista en internet]. 2007 [acceso 22 de marzo de 2016]; 6(6). 337-339. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85617472013.pdf>.
9. Neyra A. Aislamiento e Identificación de los Compuestos con Actividad Antioxidante del Extracto de Cloroformo de la Orquídea comestible *Prosthechea michuacana*. [Tesis de maestría en ciencias alimentos] Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos. Instituto Politécnico Nacional - México, 2009.
10. Armas Y. Evaluación preclínica de la actividad diurética y antioxidante de extractos de *Dichrostachys cinerea* L. Wight & Arn. [Tesis de pregrado en ciencias farmacéuticas] Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba, 2010.
11. Watanabe W, et al. Structure of Cymbidine A, a Monomeric Peptidoglycan-Related Compound with Hypotensive and Diuretic Activities, Isolated from a Higher Plant, *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). Chemical and Pharmaceutical Bulletin. [revista en internet]. 2007 [acceso 10 de abril de 2016]; 55(5): 780-783. Disponible en: [http://ci.nii.ac.jp/els/110006273065.pdf?id=AR-T0008289121&type=pdf&lang=en&host=cinii&order\\_no=&ppv\\_type=0&lang\\_sw=&no=1460228088&cp=](http://ci.nii.ac.jp/els/110006273065.pdf?id=AR-T0008289121&type=pdf&lang=en&host=cinii&order_no=&ppv_type=0&lang_sw=&no=1460228088&cp=)
12. García V, Rodríguez M, Hernández M, Trejo-Téllez L, Pedraza M, Santos P, Valdovinos G. Volatile Components in the Flower, Pedicellate Ovary and Aqueous Residue of *Cymbidium* sp. (Orchidaceae), Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation. [revista en internet]. 2013 [acceso 10 de abril de 2016]; 212-218. Disponible en: [http://file.scirp.org/pdf/JASMI\\_2013102213512479.pdf](http://file.scirp.org/pdf/JASMI_2013102213512479.pdf)  
<http://www.redalyc.org/pdf/856/85617472013.pdf>
13. Boffil M; Lorenzo G, Monteagudo E, et al. Diuretic Activity of five medicinal plants used popularly in Cuba. Pharmacology online [en Internet]. 2006 Mar [citado 6 de agosto 2007], Disponible en: [http://www.unisa.it/download/1966\\_145\\_226226808\\_40.bofill.pdf](http://www.unisa.it/download/1966_145_226226808_40.bofill.pdf).
14. Mayhua H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. [Tesis de pregrado] UNSCH. Ayacucho - Perú, 2006.
15. Quintana C. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R. & P. "queñoa". Tesis UNSCH, Perú, 2012.
16. Apesteigua J. Efecto diurético del zumo del fruto del limón *citrus limón* L., en ratas de experimentación. [Tesis de maestría en farmacología experimental] UNMSM. Lima – Perú, 2009.
17. Vilcapoma E. Actividad diurética del extracto atomizado de hojas de *Xanthium catharticum* HBK. "amor seco", niveles de sodio y potasio en la orina. [Tesis de pregrado] UNSCH, Ayacucho- Perú, 2012.
18. Salazar M. Estudio etnobotánica de *Eysenhardtia Polystachya* (Ort.) Sarg. En una Comunidad del municipio de Zempoala, Hidalgo y Evaluación del efecto diurético en rata. [tesis pregrado]. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 2007.
19. Ramírez J. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "canchalagua" en ratas albinas. [Tesis en maestría en farmacología experimental] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú, 2010.
20. Alarcón J. Evaluación del efecto diurético de *Hibiscus sabdariffa* L. Como antagonista de la aldosterona. [Tesis de doctorado en ciencias biológicas] Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa - México, 2012.
21. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Marrero E. Validación de un método *in vivo* para evaluar la actividad diurética. Revista cubana de Investigaciones Biomédica [revista en internet]. 2011 [acceso 18 de febrero de 2016]; 30(3):332-344. Disponible en: [http://www.imbiomed.com.mx/111/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=78063&id\\_seccion=666&id\\_ejemplar=7745&id\\_revista=67](http://www.imbiomed.com.mx/111/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=78063&id_seccion=666&id_ejemplar=7745&id_revista=67).
22. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Victoria M, et al. Actividad diurética de una decocción de *costus pictus* D. Don. Revista cubana de plant med [revista en internet]. Abr–Jun. 2010 [acceso 20 de marzo de 2016]; 15(10). Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol\\_15\\_2\\_10/pla02210.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_2_10/pla02210.htm).
23. Ramírez H, Palacios M, Gutiérrez O. Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. Revista Biomédica del Instituto Nacional de Salud [revista en internet], 2006 [acceso 30 de marzo de 2016]; 26(1). Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1403>.
24. Pérez M; Morrón F. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Revista Latinoamericana de Hipertensión, [revista en internet]. 2011 [acceso 17 de marzo de 2016]; 6(2). 35-40. Disponible en: [http://www.revistahipertension.com/rh\\_6\\_2\\_2011/h3](http://www.revistahipertension.com/rh_6_2_2011/h3).