

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Actividad diurética de los flavonoides aislados de
las flores de *Spartium junceum* L. “retama”,
Ayacucho 2015.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACEUTICA

PRESENTADO POR LA:

Bach. POMAHUACRE PALOMINO, YOVANA

AYACUCHO – PERU

2016

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

RD.N°0114 – 2016 – FCSA - UNSCH

Bach. Yovana Pomahuacre Palomino

En la ciudad de Ayacucho a las veinticuatro días del mes de junio del dos mil dieciséis, a las cuatro de la tarde, en el auditorio de la biblioteca central de la U.N.S.C.H, se reunieron los miembros del jurado evaluador del acto de sustentación conformado por el presidente y Decano de Facultad de Ciencias de la Salud Dr. Emilio Ramirez Roca, Mg. Javier Ñaccha Urbano (miembro), Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo (asesor) y la Mg. Nancy Castilla Torres como cuarto jurado y secretaria encargada, de la tesis titulada "Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", Ayacucho 2015, presentado por la Srta. Yovana Pomahuacre Palomino.

Verificado los documentos que abren en mesa, de acuerdo a lo reglamentado, se dio inicio al acto de sustentación en el tiempo prudente.

Concluida la exposición el jurado invita a los miembros del jurado a realizar las preguntas correspondientes y las observaciones respectivas.

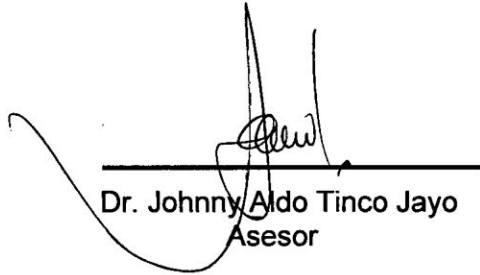
Luego de esta etapa, el presidente invita a la sustentante y a los invitados a abandonar momentáneamente la sala de sustentación, para la deliberación y calificación de los siguientes rubros.

Jurado calificador	Texto	Exposición	Respuesta	Promedio
Mg. Javier Ñaccha Urbano	17	16	16	17
Dr. Johnny A. Tinco Jayo	17	17	17	17
Mg. Nancy Castilla Torres	16	17	17	17

De la evaluación realizada se obtuvo el promedio de diecisiete (17)

Para dar fe a lo escrito los miembros del jurado firman al pie de la presente acta.

Siendo las cinco y cuarenta, de la tarde se da por finalizado la sustentación.



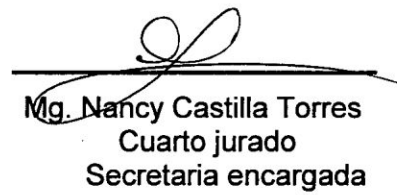
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo
Asesor



Mg. Javier Naccha Urbano
Miembro



Dr. Emilio Ramírez Roca
Presidente



Mg. Nancy Castilla Torres
Cuarto jurado
Secretaria encargada

A los seres que más amo en este mundo a mis padres; Juan Francisco Pomahuacre Rivera y Narcisa Palomino Huamán.

AGRADECIMIENTO

Especialmente a mi *Alma Mater* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes que laboran, por su invaluable apoyo académico y moral quienes me brindaron sus conocimientos y contribuyeron en el aprendizaje y orientación de mi formación universitaria.

A mis padres y hermanos que me brindaron su apoyo incondicional, en mi formación profesional.

Agradezco a Roque Huamaní Taboada por motivarme para seguir adelante en mi formación profesional.

Al Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo y Mg. Enrique Javier Aguilar Felices por su valioso asesoramiento y apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este trabajo de investigación.

También agradezco a todos los que fueron mis compañeros de clase durante los años universitarios, gracias al compañerismo, amistad y apoyo moral que han aportado en un alto porcentaje de seguir adelante en mi carrera profesional.

ÍNDICE GENERAL

	Página.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 ANTECEDENTES	3
2.2 ASPECTOS BOTANICOS	4
2.3 FLAVONOIDES	6
2.4 ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y FARMACOLÓGICOS	8
2.5 HIPERTENSIÓN ARTERIAL	10
2.6 EDEMA	11
2.7 DIURÉTICOS	12
2.8 PRINCIPALES CLASES DE DIURÉTICOS	13
2.9 FUROSEMIDA	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1 UBICACIÓN	17
3.2 MATERIALES	17
3.3 DISEÑO METODOLÓGICO	17
3.4 ANÁLISIS DE DATOS	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
IX. ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama". Ayacucho - 2016.	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página.
Figura 1. Estructura básica de los flavonoides.	7
Figura 2. Clases de flavonoides.	8
Figura 3. Estructura química de la furosemida.	14
Figura 4. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama", expresado como la variación de volumen de orina en función al tiempo. Ayacucho - 2016.	24
Figura 5. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama", expresado como volumen acumulado de la orina excretada en función a los tratamientos. Ayacucho - 2016.	25
Figura 6. Excreción volumétrica urinaria expresada en porcentaje de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama". Ayacucho - 2016.	26
Figura 7. Area bajo la curva de (ABC) de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama", en función a los tratamientos. Ayacucho - 2016.	27

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página.
Anexo 1. Certificado de la muestra de <i>Spartium junceum</i> L. "retama" procedente del distrito de Vischongo, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho - 2015.	49
Anexo 2. Flores de <i>Spartium junceum</i> L "retama" del distrito de Vischongo, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho - 2016.	50
Anexo 3. Extracción hidroalcohólico de las flores de <i>Spartium junceum</i> L "retama" en el laboratorio de farmacognosia – Ayacucho - 2016.	51
Anexo 4. Tamizaje fitoquímico de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama", en el laboratorio de farmacología. Ayacucho - 2016.	52
Anexo 5. Extracción de flavonoides mediante el proceso de extracción sucesiva de líquido a líquido utilizando un embudo de separación con los diferentes reactivos.en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.	53
Anexo 6. Recuperaciones del reactivo de acetato de etilo con el Rotavapor BUCHI y concentración de los flavonoides en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.	54
Anexo 7. Sembrado, corrido y desarrollo de la placa cromatográfica (CCF) de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L "retama", en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.	55
Anexo 8. Revelado con cloruro férrico al 5% de la placa cromatográfica (CCF) de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L "retama", en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.	56

Anexo 9.	Gráficos observados en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm, en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.	57
Anexo 10.	Gráficos observados en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm, en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.	58
Anexo 11.	Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama", en el laboratorio de farmacología. Ayacucho - 2016.	59
Anexo 12.	Análisis de varianza de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama" en los diferentes tratamientos. Ayacucho - 2016.	60
Anexo 13.	Comparaciones múltiples con la prueba de Dunnett de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama" en los diferentes tratamientos. Ayacucho - 2016.	61
Anexo 14.	Comparación de tratamientos con la prueba de Duncan de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama" en los diferentes tratamientos. Ayacucho - 2016.	62

RESUMEN

En la actualidad el uso de los diuréticos representa una excelente alternativa como terapia inicial de las enfermedades renales, hipertensión arterial y en situaciones edematosas, por ello el siguiente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama". La investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de febrero a abril 2016. Los flavonoides se aislaron utilizando la técnica de Aguilar que consiste en la extracciones sucesivas, la evaluación de la actividad diurética se empleó el método de Naik y et al, se utilizaron 25 cobayos machos de 400 a 600 gramos repartidos al azar en 5 grupos, se administró al grupo I furosemida 20 mg/kg, grupo II 50 ml/kg de NaCl 9 % y grupo III, IV, V los flavonoides aislados 2,5;5 y 10 mg/kg de peso posteriormente se colocó a jaulas diuréticas durante las 6 horas. Se obtuvo aproximadamente 8 g de flavonoides totales que fueron confirmados por la prueba de Shinoda, cromatografía y espectro UV evidenciándose isoflavonas, flavonas y flavonoles como la quercetina, la actividad diurética de los flavonoides aislados expresada como volumen acumulado de orina excretada en función al tiempo durante las 6 horas fue de 52,10 ml a dosis de 2,5mg/kg, seguido a la dosis de 5 mg/kg que fue de 40,3 ml y 10 mg/kg que fue de 37,4 ml, la furosemida 20 mg/kg fue 58,24 ml; cuyos resultados se realizó el análisis de varianza de ANOVA, seguido de la pruebas de Duncan, Dunnet, para evaluar la diferencia significativa que existe entre los tratamientos, encontrándose que la dosis de 2,5mg/kg es más eficaz y similar a la furosemida ($p > 0,05$). Se concluye que los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" presenta actividad diurética.

Palabras clave: Diurético, *Spartium junceum* L. "retama", furosemida, flavonoides.

I. INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace miles de años. Durante mucho tiempo los remedios naturales, sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso terapéutico disponible. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y se ampliara la experiencia en el empleo de los productos que se extraen a partir de ellas. En la práctica moderna, esto supone un segmento no controlado de la terapia farmacológica, por la posibilidad de los efectos terapéuticos de las plantas.¹

Nuestro país es muy rico, por su gran diversidad de flora y fauna, además posee una cultura muy antigua con respecto al uso de las plantas medicinales, gracias a esto se siguen encontrando más especies botánicas. Así como la retama (*Spartium junceum* L.) es una planta arbustiva, que se cultiva como planta ornamental, naturalizada en márgenes de torrentes y carreteras, en las riberas de los ríos por sus flores vistosas, como combustible y como planta medicinal de múltiples cualidades terapéuticas, en donde se emplean las flores, semillas, corteza del tallo. Por lo tanto el presente trabajo, se orienta a la evaluación experimental de las propiedades diuréticas de los flavonoides aislados de las flores de esta planta.²

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos, que se distribuyen en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy diversas familias. Desempeñan un papel importante en la fisiología vegetal, dado que responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Los flavonoides son compuestos que se encuentran en diferentes órganos vegetales tales como fruto, hojas, flores y cortezas, representando uno de los más importantes grupos con actividad farmacológica y posee una alta reactividad química que se manifiesta por sus

efectos sobre diferentes sistemas biológicos. Muchas propiedades son atribuidas a los flavonoides: antimicrobiana, antivirica, diurética, espasmolítico, cicatrizante.³

En la actualidad el uso de los diuréticos representa una excelente alternativa como terapia inicial de las enfermedades renales y la hipertensión arterial.⁴ En situaciones de enfermedades edematosas y también en alteraciones de la presión arterial se indica como una forma de terapia el uso de diuréticos para disminuir la volemia. En nuestro medio de acuerdo al nivel sociocultural y económico muchas veces no es posible el uso de medicamentos y existe un gran sector de nuestra comunidad que accede al uso de la llamada medicina tradicional.⁵

Los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal de agua y electrólitos, a través de su acción sobre el transporte iónico en la nefrona. Su principal objetivo es lograr un balance negativo de agua, sin embargo, no actúan directamente sobre el agua, sino a través del sodio (diuréticos natriuréticos) o de la osmolaridad (diuréticos osmóticos).⁴

En la práctica médica existe un amplio arsenal terapéutico de fármacos sintéticos que son empleados para tratar estas afecciones, que se han transmitido de generación en generación mediante un enfoque etnobotánico.⁴ es así que a los profesionales de la salud y más aun a los químicos farmacéuticos nos toca el deber de contribuir con nuestros conocimientos científicos y hacer extensivo las propiedades de nuestras especies que pueden abarcar el mercado interno y el mercado externo la posibilidad de industrialización de nuestros recursos naturales, terapéuticos, es una línea promisoría que tendría sustento siempre y cuando corroboremos su eficacia.⁶ los flavonoides han demostrado tener una gran actividad biológica, principalmente como diuréticos, por lo tanto se plantearon los siguientes objetivos.

- Evaluar la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama".
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en las flores de *Spartium junceum* L. "retama".
- Determinar la dosis diurética más eficaz de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

En las investigaciones realizadas de la actividad diurética, en los cuales mencionan que el metabolito secundario "Flavonoide", es el responsable de la actividad diurética.

En el screening fitoquímico y determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las flores de *Spartium junceum* "retama", obtuvo la presencia de los metabolitos tales como catequinas, lactonas y cumarinas, taninos y fenoles, triterpenos y esteroides, cardenólidos, alcaloides flavonoides.⁷

En la evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos, se hace referencia que estudios realizados de las sustancias aisladas a partir de plantas los flavonoides representa uno de los más importantes grupos de compuestos con actividad farmacológica y posee una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos. A los flavonoides se les atribuye muchas propiedades como: antioxidante, antimicrobiano, antivírica, diurética, espasmolítico, cicatrizante.⁸

En la investigación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas, demostró tener actividad diurética, pero menor que el control furosemida, la dosis de 500 mg/kg presentó 50 % de la actividad diurética. Donde menciona que los compuestos que pueden presentar un mecanismo de excreción acuosa, son los compuestos fenólicos como los flavonoides, los azúcares y las saponinas.⁹

La actividad diurética en ratas del extracto metanólico de *Passiflora dulis Sims* (maracuyá), demostró que las dosis ensayadas tienen eficacia diurética similar a furosemida. La cual podría deberse a los flavonoides que contiene esta planta.¹⁰

En el estudio de efecto diurético de *Phyllanthus niruri* "chanca piedra" y niveles de excreción de sodio en *Rattus rattusvar Albinus*, Indica que tiene efecto

diurético, al presentar un volumen urinario de 10.2 ml mayor respecto a los grupos control (4.66 ml) y patrón (8.31 ml), se demostró que presenta efecto diurético y aumenta los niveles de excreción de sodio.⁵

En la evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morindacitrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas, se demostró actividad diurética a las dosis de 200 y 400 mg/kg por vía oral y podría deberse a que en su composición contiene diversos flavonoides con efectos diuréticos.⁴

En el estudio de efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) en ratas normales, ambos extractos mostraron un significativo efecto diurético y de excreción renal de sodio y potasio en comparación con el control, mientras que con la administración en dosis repetidas a corto plazo mostraron efecto diurético sin eliminación de electrolitos, el estudio histopatológico sugirió efectos tóxicos hepáticos o renales, así como también menciona que requieren estudios posteriores que permitan aislar e identificar los compuestos responsables y los mecanismos de acción involucrados en la actividad diurética.¹¹

2.2. ASPECTOS BOTANICOS

2.2.1. Clasificación taxonómica

Division	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Rosidae
Orden	: Fabales
Familia	: Papilionacea
Genero	: Spartium
Especie	: <i>Spartium junceum</i> L.
Nombre vulgar	: "retama "

Fuente: *Herbarium huamangensis* – Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1)

2.2.2. Descripción de la familia Papilionaceae

Familia de árboles, arbustos, trepadoras y plantas herbáceas con hojas alternas, raramente opuestas, frecuentemente pinnadas o trifoliadas, con estípulas. Inflorescencias racemosas o paniculadas. Flores mayormente zigomorfas, con 5 sépalos unidos parcialmente y (1-5) pétalos, normalmente dispuestos de manera característica, formando un estandarte, las alas y la quilla, que encierra los estambres. Estos varían desde 10 a numerosos, unidos en un tubo o libres. El fruto es una legumbre, a veces indehiscente, constituyendo entonces un

lomento, sámara o nuez. Incluye entre 400-500 géneros y alrededor de 10.000 especies, distribuidas en regiones templadas, tropicales y subtropicales de todo el mundo. Familia de importancia económica por la producción de granos (judía, garbanzo, haba, guisante, lenteja, etc.).¹²

2.2.3. Descripción botánica

Es una planta arbustiva, de 3-4 metros de alto de tallos ramificados, los tallos maduros leñosos de un color marrón y los tallos tiernos verdes fotosintéticos, reemplazando en su función a las hojas debido a que estas son muy escasas y caducas, de 1-2 cm de largo, alargadas - lanceoladas cortamente pecioladas de disposición alterna y penninervias.

Inflorescencias en racimos terminales laxos: flores grandes, zigomorfas, heteroclamideas y pentámeras, de prefloración vexilar; cáliz de 5 sépalos pétalos dispuestos de la siguiente manera: uno exterior grande llamado estandarte o vexilo que envuelve al resto de los pétalos, 2 laterales llamadas alas simétricos, soldados por la parte anterior formando la quilla o carina Androceo formado por 10 estambres monodelfos que envuelven al ovario formando el tubo estaminal, gineceo de ovario súpero, unicarpelar y unilocular.

Fruto vaina o legumbre dehiscente de color verde cuando tiernos y pardonegruscas cuando maduras, conteniendo numerosas semillas de formas arriñonadas de un color pardo - negruzco.¹³

2.2.4. Hábitat y distribución

Es una planta introducida de Europa que crece en forma asilvestrada en la costa, sierra y selva formando la vegetación ribereña, borde de chacras, huertos y lugares húmedos. Esta planta ornamental, de flores vistosas y olorosas vive en barrancos húmedos, márgenes de arroyos, ríos, etc, sobre suelos básicos, muy de ordinario en márgenes de carreteras y cerca de lugares habitados.¹² lo encontramos en las orillas de los ríos, rocas inclinadas, entre los 1500 a 4000 m.s.n.m; en los departamentos de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, Lima, también lo encontramos en el departamento de Amazonas.²

2.2.5. Usos tradicionales del *Spartium junceum* L. "retama"

Es una planta ornamental muy usada en la medicina natural, ya que es empleada en varias dolencias.

La infusión se prepara con 1 cucharada del vegetal para 1 litro de agua recién hervida: se debe beber 1 taza 3 veces en el día.

- La raíz, corteza del tallo, flor y semilla constituyen propiedades amargas, laxantes y poco eméticas las flores y los frutos.
- Las flores en forma de sauna, inhalando sus vapores se alivian afecciones nasales conocidas como sinusitis, la cual se manifiesta con expulsión de gran cantidad de mucosidad nasal.
- Soasando las flores y aplicando en forma de cataplasma en la frente y cerebro, alivian los dolores de la cabeza. Afecciones renales y de las vías urinarias; malestares estomacales, úlceras gástricas; trastornos menstruales.
- Las hojas y las flores combaten el reumatismo, ictericia, afecciones crónicas de los riñones, vejiga, gota, de la piel, herpes, granos de la cara. En casos de retrasos menstruales, normaliza la función genital femenina.¹⁴

2.3. FLAVONOIDES

Los flavonoides son sustancias de bajo peso molecular producidas por casi todas las plantas vasculares. Esta gran familia de compuestos ha estado presente en la naturaleza durante más de mil millones de años, de manera que han actuado recíprocamente con el desarrollo de muchos organismos. Los flavonoides cumplen un importante papel en la naturaleza que ha perdurado en las plantas vasculares a lo largo de la evolución. Esta asociación entre las plantas productoras de flavonoides y las diversas especies animales y otros organismos, puede explicar la gama extraordinaria de actividades bioquímicas y farmacológicas que estos productos ejercen en el hombre y otros mamíferos, como resultado de la coexistencia o coevolución de ambos reinos.¹⁵

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos, que se distribuyen en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy diversas familias. Desempeñan un papel importante en la fisiología vegetal, dado que responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas.¹⁶

Comprenden un amplio grupo de compuestos polifenólicos que aparecen de forma espontánea en casi todas las plantas superiores. Poseen un origen biosintético común y por ese motivo, un mismo elemento estructural básico con diferentes grados de oxidación, dando lugar a las distintas familias estructurales: flavonas, flavonoles, flavanonas, catequinas (o flavonoles). La mayoría de los flavonoides se encuentran en forma de heterósidos, y entre los azúcares que entran a formar parte de su estructura se incluyen la D-glucosa, la L-ramnosa, la glucoramnosa, la galactosa y la arabinosa.¹⁷

2.3.1. Biosíntesis de los flavonoides

Los dos anillos tiene diferente origen biosintético, el anillo A proviene de la vía del acetato y el anillo B del ácido sikímico. La unidad iniciadora es la *p*-cumaril-CoA, que se incorpora intacta, posteriormente se incorporan secuencialmente tres unidades de malonil - CoA dando lugar a la estructura de la chalcona, que posterior cierre de anillo, subsiguientes hidroxilaciones y reducciones de las plantas son capaces de formar las diferentes clases de flavonoides.¹⁸

2.3.2. Estructura química

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C.¹⁹

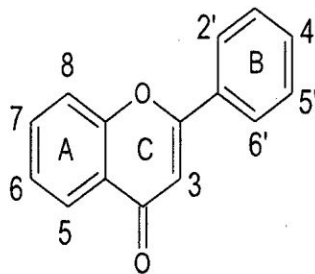


Figura 1. Estructura básica de los flavonoides .¹⁹

En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

1. Flavanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
2. Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
3. Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
4. Antocianidinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C .¹⁹

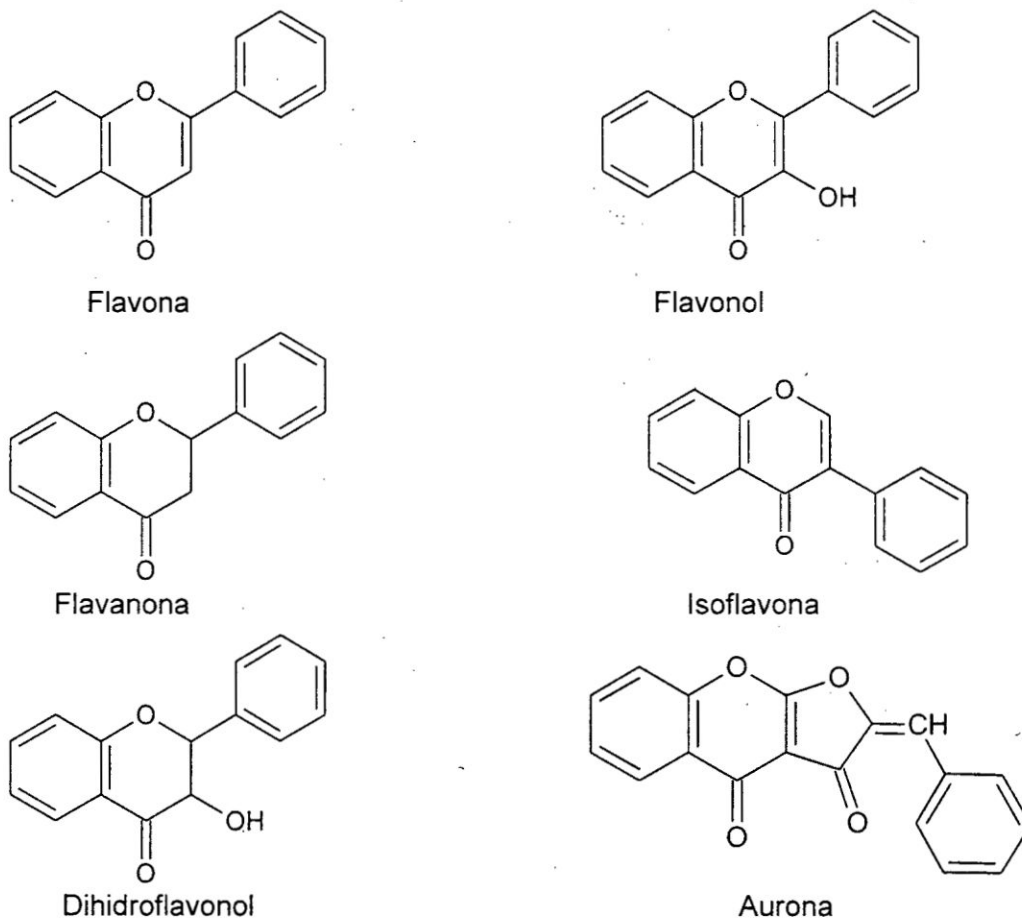


Figura 2. Clases de flavonoides.¹⁹

2.4. ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y FARMACOLÓGICOS

2.4.1. Fisiología renal

Función esencial del riñón se considera como tal al mantenimiento de las condiciones constantes del medio interno, es decir, la homeostasis y el sustrato funcional.

Excreción de productos de desecho, nitrogenados y ácidos, Urea (aminoácidos), creatinina (actividad muscular), bilirrubina (degradación de hemoglobina), metabolitos hormonales, toxinas y sustancias varias, producidas o ingeridas. Regulación del equilibrio hídrico, electrolítico y osmolaridad (líquidos corporales, plasmática). Retención de nutrientes: agua, electrólitos, glucosa y proteínas. Ajustes en volumen de agua corporal y concentración de sodio, síntesis de hormonas (eritropoyetina) y factores vasoactivos: renina, angiotensina II, síntesis

de vitamina D3 (forma activa: calcitriol), síntesis de glucosa a partir de aminoácidos y otros precursores.²⁰

Los riñones mantienen el volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de límites estrechos, estos órganos han sido programados para llevar a cabo el ajuste fino de la concentración de los electrolitos y otras sustancias presentes en los compartimentos del líquido extracelular e intracelular, de modo que sean apropiados para mantener la función corporal normal. Los riñones llevan a cabo sus funciones reguladoras a través de los procesos de filtración, reabsorción y secreción. Estas funciones también gobiernan la excreción de los fármacos. Las dos entidades fisiopatológicas fundamentales que requieren drogas de acción predominante renal, están presentadas 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 2 grupos:

- a) Diuréticos, que modifican favorablemente el edema
- b) Los anti-diuréticos, con acción beneficiosa en la diabetes insípida.²¹

2.4.2. Líquido intracelular

Alrededor de 25 de los 40 litros de líquido corporal se encuentran dentro de los 75 billones de células del cuerpo, denominándose el conjunto líquido intracelular.

El líquido de cada célula tiene su propia composición, pero las concentraciones de los distintos componentes son bastante similares de unas células a otras. Por este motivo se considera que el líquido intracelular de las distintas células es un gran compartimiento líquido. Componentes importantes del líquido intracelular. El líquido intracelular contiene solo pequeñas cantidades de ion sodio, cloruro y carece prácticamente de calcio, en contraste, contiene grandes cantidades de fosfato y potasio y cantidades moderadas de magnesio y sulfato, todos ellos presentes en pequeñas concentraciones en el líquido intracelular. Además las células contienen grandes cantidades de proteínas.²¹

2.4.3. EL líquido extracelular

Todos los líquidos que se encuentran fuera de las células se conocen como líquido extracelular, encontrándose a su vez en un proceso de mezcla constante. La cantidad total en el compartimento extracelular es aproximadamente de 15 litros en un adulto de 70 Kg. El líquido extracelular puede ser dividido en el líquido intersticial, plasma, líquido cefalorraquídeo, líquido intraocular, líquido del aparato gastrointestinal y líquidos de los espacios potenciales. Componentes

importantes del líquido extracelular. Se observa que el líquido extracelular, tanto en su componente plasmático como en el intersticial, contienen grandes cantidades de iones de sodio y cloro, cantidades importantes del anión bicarbonato y solo pequeñas cantidades de potasio, calcio, magnesio y aniones orgánicos.²¹

2.5. HIPERTENSIÓN ARTERIAL.²²

El aumento de la presión arterial es un problema sanitario extraordinario por tres razones principales: es común, sus consecuencias son extensas y a veces devastadoras y permanece asintomático hasta etapas tardías de su evolución. La OMS y el Comité de Detección, Evaluación y tratamiento de la Hipertensión de EE.UU, (CDETH) emplean como cifras de presión arterial normal las menores de 90 mmHg como diastólica y valores inferiores de 140 mmHg en lo referente a la sistólica, la cual varía según la edad, el sexo y el grupo socio-racial . Se considera Hipertensión Arterial (HA) a valores por arriba de los mencionados registrados en por lo menos dos determinaciones en días diferentes. Otro punto fundamental en el concepto de hipertensión arterial es la lesión a órganos blancos. Ello implica que si un paciente de primera aparición presenta datos clínicos o paraclínicos de lesión orgánica por hipertensión se le considera hipertenso, independientemente de las cifras que manifieste en ese momento. También se considera hipertenso el paciente que al ser valorado clínicamente este recibiendo medicación antihipertensiva, sin tomar en cuenta los valores que presente.

Muchos factores contribuyen a las variaciones en la presión arterial de un individuo durante sus actividades diarias:

- Postura corporal.
- Estado de la actividad muscular, cerebral o gastrointestinal.
- Estímulos emocionales o dolorosos.
- Factores ambientales tales como temperatura e intensidad de ruidos. e. Empleo de tabaco, café y otras drogas con propiedades vasomotoras por vía directa o neural.

2.5.1. Factores relacionados con la hipertensión arterial.²²

Se han asociado los siguientes elementos como agentes estrechamente relacionados con la aparición de las diferentes formas clínicas de hipertensión arterial:

- Personalidad impulsiva, sensible y perfeccionista

- Raza negra (es más severa la hipertensión arterial)
- Obesidad
- Uso y abuso de sal
- Herencia
- Nivel educacional
- Consumo de cigarrillos.
- Sedentarismo.

2.6. EDEMA

Acumulación anormalmente grande de agua y electrolitos en el espacio extracelular. Para que el edema sea clínicamente ostensible es necesario que la retención líquida alcance aproximadamente al 10% del peso corporal. La composición química del líquido del edema es similar a la del plasma en lo referente a electrolitos y cristaloides no electrolitos. En cambio el contenido en proteínas es variable según la etiología y mecanismos del edema.²³

2.6.1. Fisiopatología de los edemas

Depende de la etiología de la patología que causa el edema. A su vez la elección del diurético depende parcialmente al menos, de la etiología del edema. La formación de edema ocurre principalmente por las siguientes causas:

- a. Aumento de la presión hidrostática en el capilar.
- b. Disminución de la presión coloidosmótica u oncótica del plasma (hipoproteinemia).
- c. Aumento del contenido proteico en el fluido intersticial (por ejemplo, en procesos inflamatorios).
- d. Aumento de la secreción de la aldosterona (por ejemplo, aldosteronismo secundario) que ocasiona una absorción aumentada de sodio en el túbulo distal y colector de los riñones. Lo mismo ocurre con los efectos mineralocorticoides de los glucocorticoides y hormonas sexuales.

El edema generalmente constituye un signo o un síntoma de una enfermedad subyacente y no una patología específica intrínseca en sí misma, por ello el tratamiento de las enfermedades que producen los edemas deben estar orientados a:

- a. Terapéutica específica de la enfermedad primaria
- b. Incremento de la diuresis, por el uso de diuréticos
- c. Reducción de la cantidad de sodio de la dieta (dieta hiposódica).²³

2.7. DIURÉTICOS

Son agentes que elevan la velocidad de excreción urinaria por los riñones, principalmente a través de una reducción de la reabsorción tubular del ión sodio y de su equivalente osmótico de agua en los túbulos renales. La acumulación excesiva de fluido en los compartimentos extracelulares puede deberse a una insuficiencia cardíaca, cirrosis hepática, trastornos renales.²⁴

Los diuréticos constituyen drogas que actúan sobre el riñón y son capaces de provocar un aumento de volumen de la orina excretada, pero el propósito de los diuréticos en el edema no es simplemente aumentar el volumen de la orina sino promover la excreción de sodio, ya que el agua le sigue pasivamente por acción osmótica, al igual que el cloruro con respecto al sodio que también lo hace pasivamente, además se sabe el papel esencial de la retención del catión sodio en todo los tipos de edema. Por lo tanto, los diuréticos, para ser activos y útiles deben ser saluréticos – eliminadores de cloruro de sodio o mejor dicho natriuréticos – excretadores de sodio. Tan importantes es este concepto que actualmente se definen los diuréticos como las drogas que actúan sobre el riñón, provocan primariamente la excreción de sodio y producen un balance negativo de dicho catión, como la excreción de sodio acompaña de la de cloruro, los términos diuréticos y saluréticos son sinónimos.

Los diuréticos provocan.

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

Los diuréticos genuinos actúan sobre el riñón; teóricamente estas drogas pueden ejercer sus efectos por aumento de la filtración glomerular o por disminución de la reabsorción tubular. Se ha demostrado que la mayoría de los diuréticos actúan por disminución de la reabsorción tubular.²⁵

Fármacos diuréticos: Por definición los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal de agua y de electrolitos por lo que son utilizados para regular tanto el volumen como la composición del medio interno en diferentes afecciones como la hipertensión, insuficiencia cardíaca, síndromes nefróticos, entre otros. Históricamente, la clasificación de los diuréticos ha sido variada, considerándose en ello: el sitio de acción (diuréticos de asa), eficiencia (diuréticos de techo alto),

estructura química (diuréticos tiazida), similitud de acción con otros diuréticos (diuréticos parecidos a tiazidas), efectos sobre la excreción de potasio (diuréticos ahorradores de potasio) y otros.²⁶

Los diuréticos son de los fármacos más utilizados en el mundo en el contexto de urgencias médicas y en los enfermos críticos por su papel en el manejo de volumen. Además de los diuréticos clásicos, en los últimos años han sido utilizados nuevos fármacos con acción sobre la diuresis, como el péptido natriurético auricular y los antagonistas de los receptores de la vasopresina, que podrían ser de utilidad, especialmente en el contexto del síndrome cardiorrenal.²⁷

2.8. PRINCIPALES CLASES DE DIURÉTICOS.²⁸

2.8.1. Diuréticos de gran eficacia o de cima elevada

Pues su curva 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 del Henle en toda su extensión, de ahí su otra denominación de diuréticos "del asa". Los principales son los derivados del ácido antranílico (furosemida) y los derivados de la metilamida (bumetanida).

2.8.2. Diuréticos de moderada eficacia: Menos natriuréticos que las anteriores que disminuyen 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:

Tiazidas : Estos pueden clasificarse en 4 grupos

- Grupo A : Clorotiazidas
- Grupo B : Hidroclorotiazida
- Grupo C : Triclorotiazida
- Grupo D : Ciclotiazida

Quinazolininas:

Metalazona

2.8.3. 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.

Inhibidores de la anhidrasa carbónica:

Acetazolamida

Diuréticos osmóticos

Manitol

2.8.4. Diuréticos economizadores de potasio o antikaluréticos

Corresponden a los antagonistas de la aldosterona y drogas a fines. Tales como el triamtereno, amilorida, con acciones semejantes y que actúan así mismo en los segmentos distales de la nefrona donde antagonizan la acción de los mineralocorticoides, la reabsorción activa de sodio y secreción pasiva de potasio, de manera que no pierde, si no que se ahorra potasio.

2.9. FUROSEMIDA

Posee un grupo bencensulfamilo halogenado adyacentes, 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.²⁹ La furosemida es más efectiva en inducir diuresis, incluso con función renal disminuida. Su potente efecto natriurético hace que sea el fármaco de elección.²⁸

Es un poderoso diurético de acción muy breve derivado de las sulfonamidas, se absorben con rapidez, la furosemida aumenta el flujo sanguíneo renal y causa la redistribución del riego sanguíneo dentro de la corteza del riñón.³⁰

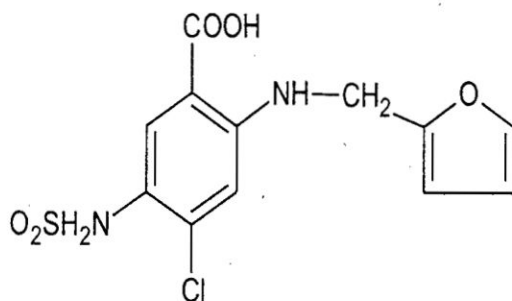


Figura 3. Estructura química de la furosemida.²⁹

2.9.1. Mecanismo de acción

La furosemida bloquea el cotransporte activo sodio-cloro en la membrana luminal de la rama ascendente de la rama gruesa de Henle, que es el principal mecanismo de reabsorción de iones de sodio y cloruro.²⁴

Actúa inhibiendo la reabsorción de sodio en la porción ascendente gruesa del asa de Henle, donde se reabsorbe entre el 25 y el 40 % del filtrado, interfiriendo con la proteína cotransportadora Na-K-2Cl.²⁸

2.9.2. Farmacodinamia

Tiene una curva dosis –respuesta muy amplia, la dosis puede graduarse de modo de obtener respuestas progresivas.³¹

Los diuréticos de alta eficacia, o llamados también diuréticos del asa, actúan inhibiendo la reabsorción tubular del Na⁺ y Cl⁻, en el 12 segmento medular y cortical de la rama ascendente gruesa del asa de Henle. La acción se relaciona con una inhibición de la enzima Na-KATPasa. Estos diuréticos, aumentan definitivamente la excreción de sodio, cloruro, potasio, y agua. Se presentan efectos secundarios menos frecuentes como erupción cutánea, aplasia de médula ósea, pancreatitis, acufenos, vértigo, sordera, agranulocitosis y fotosensibilidad.²⁶

2.9.3. Farmacocinética

La furosemida se absorbe perfectamente por todas las vías en forma rápida y completa, es así como en relación con la dosis, la potencia es prácticamente la misma por vía bucal o intravenosa. Una vez absorbidos pasan a la sangre, con un nivel plasmático máximo a los 90 minutos. La vida media de furosemida es de 0,85 horas y se une intensamente a las proteínas plasmáticas de un 95 a 99 %. Se excretan principalmente en la orina y también por la bilis al intestino, es así que con la furosemida ya a las seis horas se han eliminado el 50 % de la dosis.²⁴ La furosemida se absorbe hasta un 80 % tras su administración por vía oral, siendo más eficiente su uso parenteral, capaz de producir un aumento de capacitancia venosa a los cinco minutos de la administración de dosis, con un inicio de la diuresis en treinta minutos tras su administración.³²

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología en el área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la salud de Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, ubicado en la ciudad de Ayacucho a 2700 m.s.n.m. durante los meses de febrero a abril 2016.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Población

Flavonoides presentes en las flores de *Spartium junceum* L. "retama" procedentes del distrito de Vischongo y provincia de Vilcashuamán del departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

8 gramos de flavonoides aislados de las flores secas de *Spartium junceum* L. "retama".

3.2.3. Material biológico

En el estudio realizado se utilizaron 25 cobayos machos de 400-600 gramos de peso que se adquirió de Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de las mismas edades, criados y alimentados en las mismas condiciones, y fueron divididos en 5 grupos.

3.3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1. Preparación de la muestra

Se recolectaron y seleccionaron las flores de *Spartium junceum* L. "retama", se secaron por un mes a temperatura ambiente, con una buena ventilación, bajo sombra, cambiando el soporte a diario y removiendo cuidadosamente para evitar su descomposición. Concluido el proceso de secado se tomó 400 g de flores secas se sometió a molienda con un mortero de porcelana hasta obtener un polvo ligeramente fino y se maceró con 2 litros de etanol al 80 % por una

semana, luego se procedió a filtrar y evaporar a sequedad en un evaporador rotatorio BUCHI 300, obteniéndose 106 g de extracto hidroalcohólico.

3.3.2. Pruebas de identificación cualitativa de metabolitos secundarios

Del extracto hidroalcohólico obtenido se utilizó para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en las flores del *Spartium junceum* L. "retama", siguiendo el método de Miranda y Cuellar.³³

3.3.3. Técnica de extracción de flavonoides de las flores de *Spartium junceum* L. "retama"

El extracto seco fue suspendido en agua destilada, luego desengrasado con éter de petróleo y extraída sucesivamente con cloroformo, acetato de etilo. Los flavonoides se concentraron en la fracción de acetato de etilo, donde se obtuvo 8g de flavonoides, el mismo que se evidenció con la prueba de Shinoda.³⁴

Reacción de Shinoda: la fracción de acetato e etilo se separó una mínima cantidad a un tubo de ensayo en donde se agregó un pequeño trozo de cinta de Mg, seguido por gotas de HCl concentrado; en donde se observó una coloración de rojo cerezo.³⁵

Cromatografía en capa fina (CCF)

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: placa cromatográfica 20x20 conteniendo silicagel G 254 (Merk)
- Fase móvil: Butanol: Ácido acético: agua (4:1:5)
- Volumen de inyección: 20 µl
- Revelador: Luz ultravioleta, cloruro ferrico

La fracción de acetato de etilo se disolvió en 1ml de metanol y mediante un capilar de vidrio, se aplicó en la parte inferior de la placa cromatográfica previamente activada (fase estacionaria), se colocó la placa de CCF en la cámara teniendo cuidado que el solvente butanol: ácido acético: agua (4:1:5) no sobrepase a la muestra aplicada y dejándose que el líquido ascienda por capilaridad. Posteriormente se procedió a sacar la placa cromatográfica teniendo en cuenta que el solvente llegue hasta los 2 cm de la parte superior de la placa, se dejó secar la placa de CCF al aire libre y se observó en la luz UV, finalmente se reveló con cloruro férrico al 1%. Por otra parte la siembra de la fracción de acetato de etilo se realizó en bandas con el propósito de aislar los flavonoides, estas bandas fueron recuperadas, disueltas en metanol y filtrado para las pruebas espectrales, los cuales se evidencio en la luz ultravioleta.

Espectro UV: El filtrado de las bandas fuerón leidas en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm.³⁴

3.3.4. Evaluación de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama".

Se realizó utilizando el método descrito por Naik, *et al.* El método consiste en la administración de un volumen conocido de solución salina y después medir la cantidad del líquido eliminado por efecto diurético de la sustancia ensayada, utilizando como patrón la furosemida.³⁶

A partir de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", se preparó una solución patrón a 0,2%; a partir de ello se administró a diferentes dosis a los cobayos.

3.3.5. Procedimiento experimental

En este ensayo se utilizó cobayos del mismo sexo y edad con un peso comprendido entre 400-600 gramos.

Los animales de experimentación fueron distribuidas al azar en 5 grupos con 5 animales por grupo.

- Los animales fueron dejados en ayunas de 10 a 12 horas antes de la prueba sin privarlos de agua.
- Se administró por vía oral una solución de NaCl al 9 % (solución fisiológica), mediante una sonda nasogástrica, en una dosis de 50 ml/kg de peso, y se colocó a una jaula de diuresis.
- Después de 20 minutos de hidratación, se pesaron a los cobayos y se administró por vía oral las siguientes muestras y se les colocó a una jaula de diuresis en el siguiente orden

Grupo I: Control se administró Furosemida 20 mg/kg de peso corporal

Grupo II: Blanco se administró (solución de NaCl al 9 %) 50 ml/kg

Grupo III: Flavonoides aislados a una concentración de 2,5 mg/kg

Grupo IV: Flavonoides aislados a una concentración de 5 mg/kg

Grupo V: Flavonoides aislados a una concentración de 10 mg/kg

- Se recolectó la orina cada hora, hasta la sexta hora en todo los casos en una probeta graduada para medir el volumen de orina eliminado, lo que permitió determinar la actividad diurética y la eficacia diurética con relación a la furosemida tomada como patrón.
- Se expresó la excreción volumétrica urinaria (EVU) en porcentaje y la actividad diurética utilizando la siguiente formulas.^{37,38}

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

$$\text{Actividad diurética} = \frac{\text{Volumen de orina excretado (Grupo tratado)}}{\text{Volumen de orina excretado (Grupo positivo)}}$$

Escala: alta: AD $\geq 0,90$, moderada: AD (0,89 -0,70), baja: AD (0,69 -0,50), nula: AD < 0,50

- Se graficó el área bajo la curva de la excreción urinaria

3.4. ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis estadístico se realizó los gráficos utilizando histogramas y curvas de respuesta en función al tiempo, también se realizó el análisis de varianza de ANOVA y las pruebas de Dunnett, Duncan, mediante el paquete estadístico SPSS con un nivel de 95 % de confianza, los resultados se expresaron en tablas y figuras.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las flores de *Spartium junceum* L. "retama". Ayacucho - 2016.

Metabolitos Secundarios	Observación	Resultados
Alcaloides		
• Ensayo de Dragendorf	Precipitado anaranjado	+++
• Ensayo de Mayer	Opalecencia	+ - -
• Ensayo de Wagner	Turvidez defenida	++-
Triterpenos y Esteroides		
Ensayo de Lieberman-Buchard	Verde intenso	++-
Lactonas y Cumarinas		
Ensayo de Baljet	Anaranjado tenue	+ - -
Flavonoides		
Ensayo de Shinoda	Coloración rojo cerezo	+++
Fenoles y Taninos		
Ensayo de FeCl ₃	Coloración azul oscuro	+++
Azucars Reductores		
Ensayo Fheling	Amarillento	- - -
Aminoacidos		
Ensayo de Ninhidrina	Coloración azul violáceo	+++

Leyenda: (++) Abundante
 (++ -) Poco
 (+ - -) Leve
 (- - -) Negativo

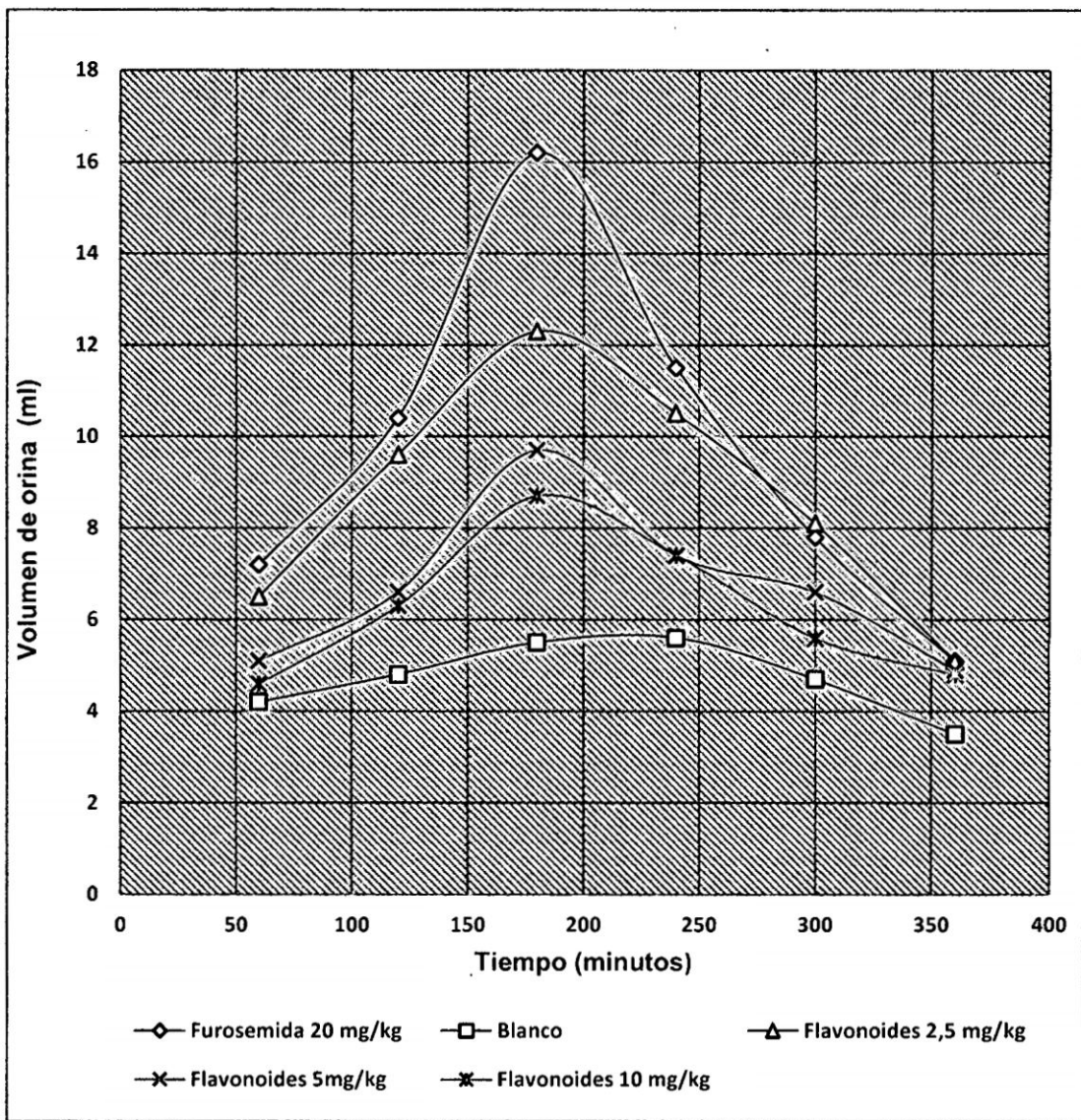


Figura 4. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", expresado como la variación de volumen de orina en función al tiempo. Ayacucho - 2016.

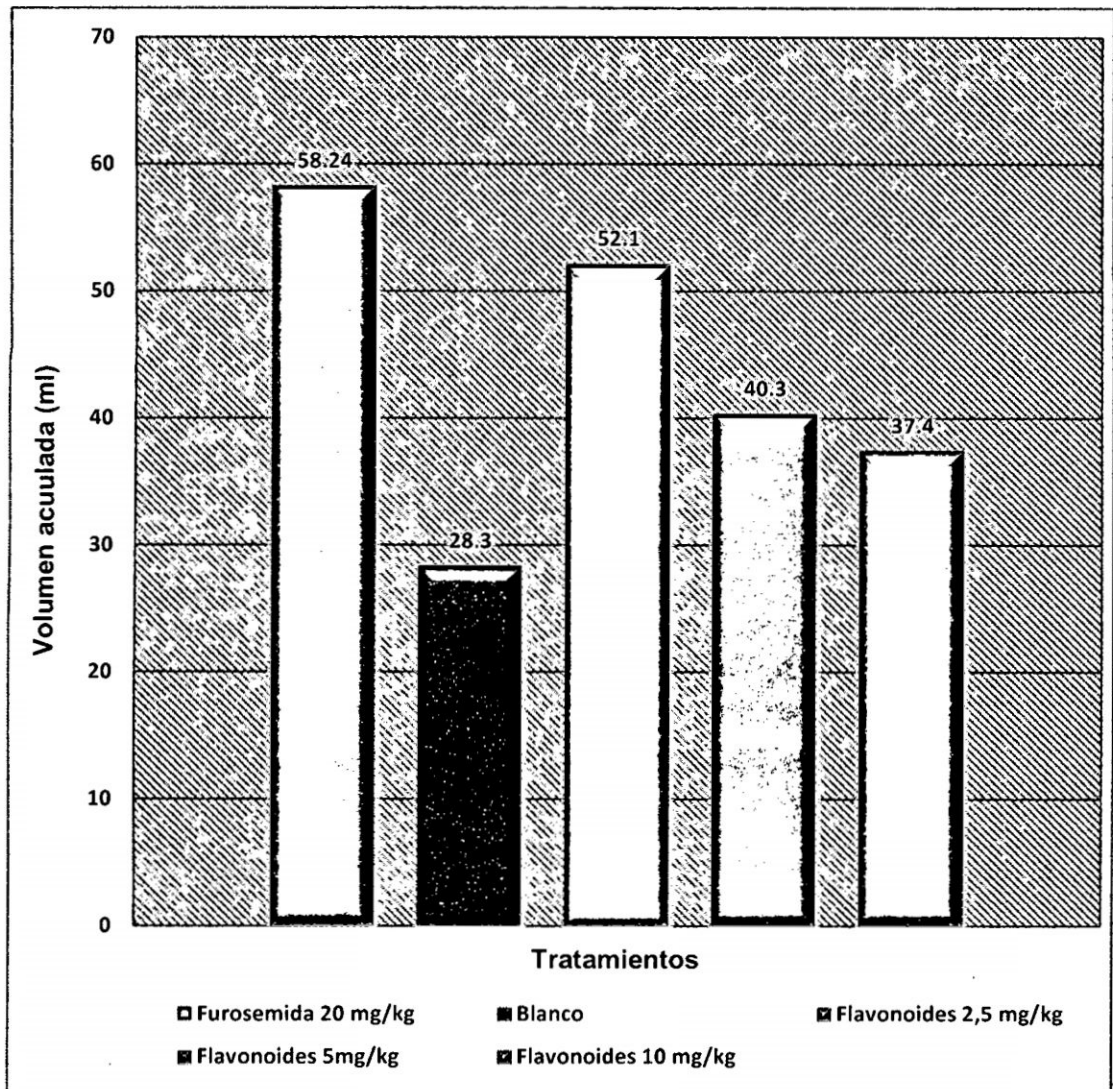


Figura 5. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", expresado como volumen acumulado de la orina excretada en función a los tratamientos. Ayacucho - 2016.

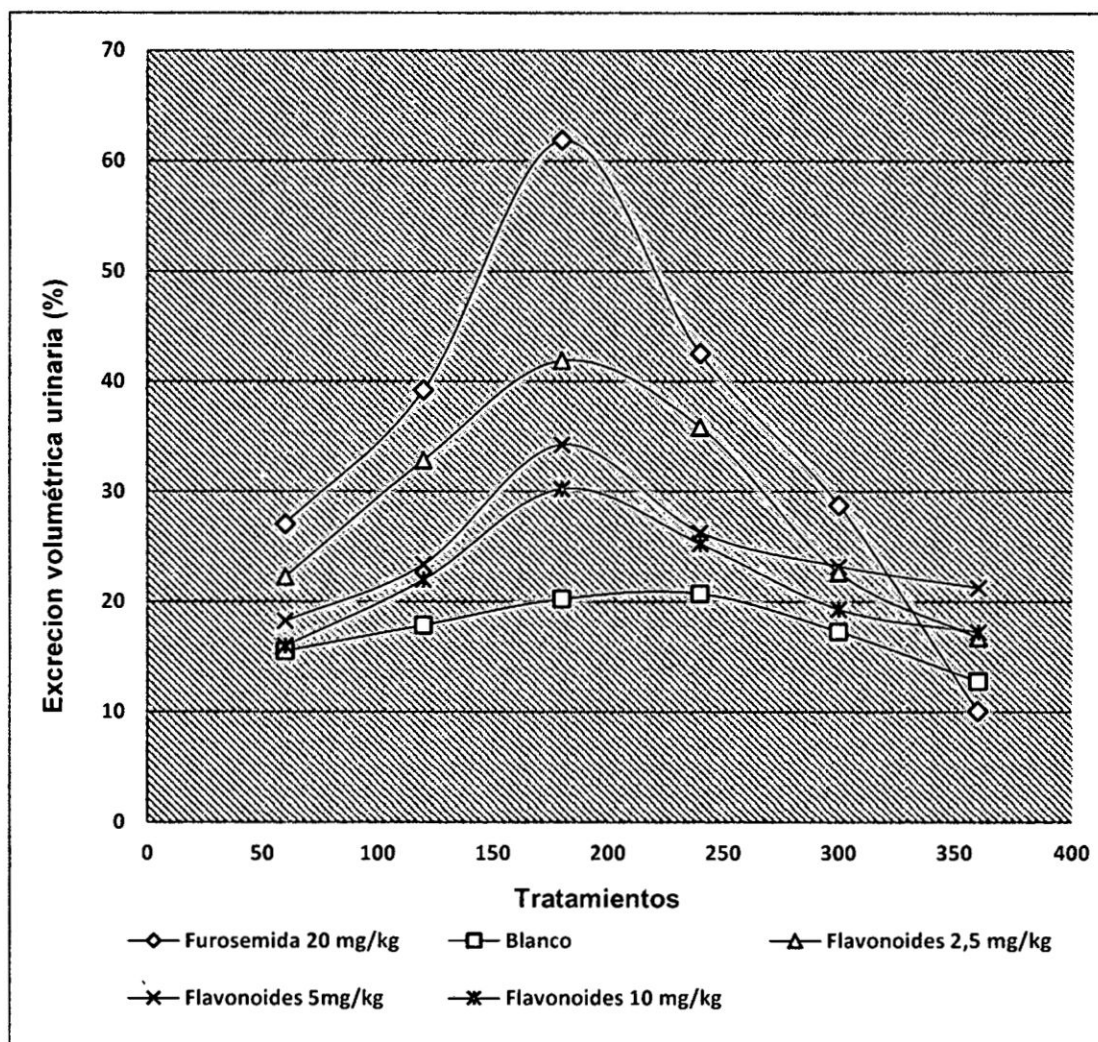


Figura 6. Excreción volumétrica urinaria expresada en porcentaje de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama". Ayacucho - 2016.

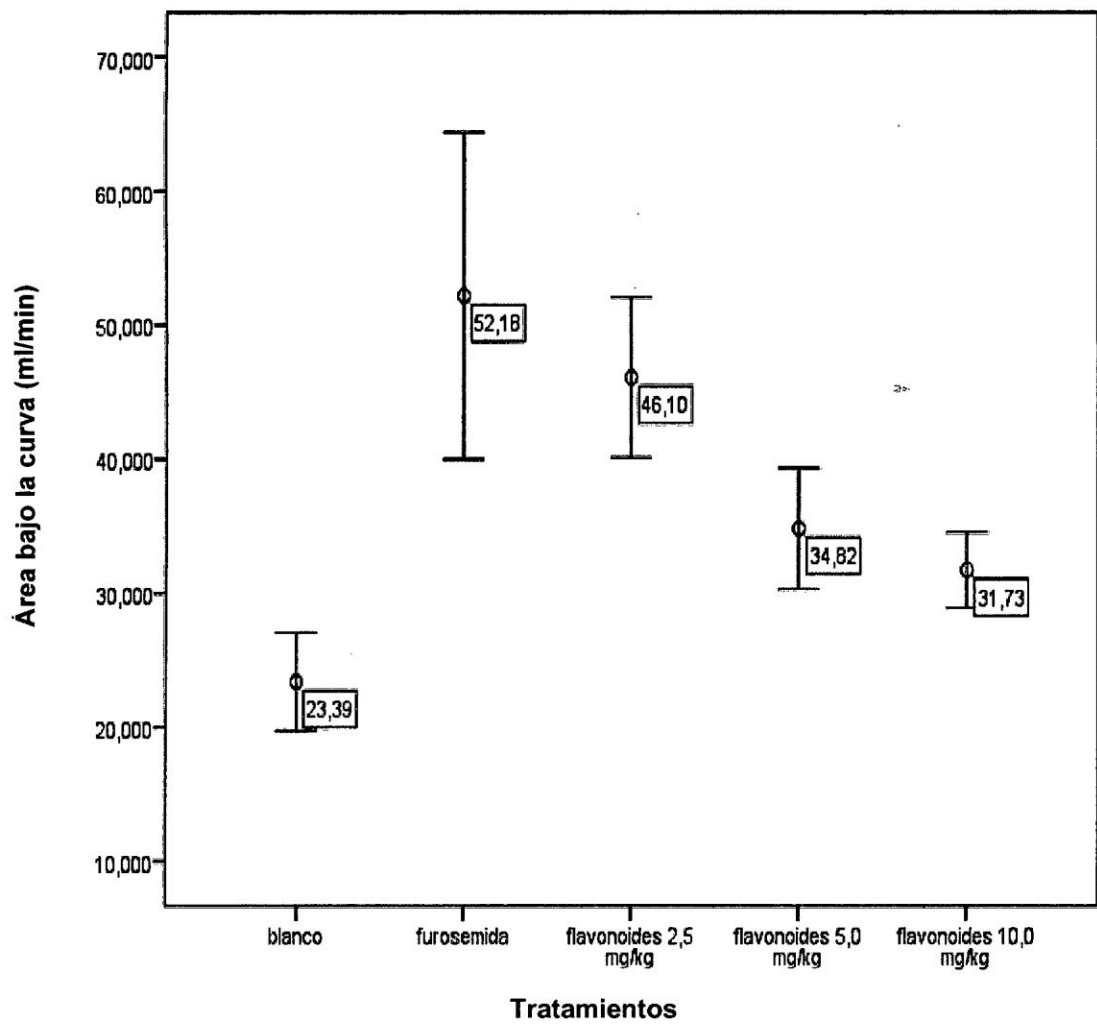


Figura 7. Area bajo la curva de (ABC) de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", en función a los tratamientos. Ayacucho - 2016.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determinó la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", donde se empleó diferentes solventes para aislar los flavonoides así como el etanol, éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo. La extracción de flavonoides, está ampliamente reportado.^{34,39} para la separación de otros metabolitos secundarios se realizó mediante un proceso de extracción sucesiva de líquido a líquido utilizando un embudo de separación, se utilizó diferentes solventes como el éter de petróleo, cloroformo y acetato de etilo; ya que el éter de petróleo elimina las grasas, ceras, pigmento, otros metabolitos, la segunda extracción con cloroformo tiene la finalidad de separar los terpenos y sesquiterpenos, finalmente se utilizó el acetato de etilo con la finalidad de aislar los compuestos fenólicos específicamente los flavonoides, obteniéndose aproximadamente 8 g de flavonoides totales, en los diferentes extractos mediante la prueba de Shinoda, observándose en la fase etérea una coloración amarillenta y en la fracción de acetato de etilo color rojo cerezo, además en el estudio fitoquímico se encontró diversos metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico.

En la tabla 1 y anexo 4, se plasma el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico, y las fracciones aisladas es desarrollado según la literatura de Lock de Ugaz.³⁵ y Miranda.³³ encontrándose flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos y aminoácidos, en poca cantidad triterpenos y esteroides, así mismo se encontró mínima cantidad a las lactonas y cumarinas, pero no se observaron azúcares reductores. Los metabolitos secundarios presentes se encuentran en gran cantidad, esto debido a que el extracto hidroalcohólico arrastra metabolitos secundarios mediana y fuertemente polares.³³ en el ensayo cromatográfico preliminar se confirmó la presencia de los flavonoides observándose manchas con luz ultravioleta (CAMAG) 210 nm, revelándose con FeCl₃ al 1%, adjuntado

en el anexo, donde se observa la presencia de flavonoides libres y metoxilados de manchas de color marrón oscuras y marrón tenue respectivamente. Las manchas fluorescentes de flavonoides fueron amarillo, lila, marrón, verde, celeste, anaranjado. La detección de los flavonoides por cromatografía de papel y capa delgada son visualizados con luz ultravioleta se presentan como manchas fluorescentes azules, rosadas, naranjas, purpuras y otras; las cuales se intensifican o cambian de fluorescencia luego de su exposición a vapores de amoníaco.³⁵ lo cual se pudo apreciarse en la parte experimental visualizándose en el anexo 7. Los flavonoides resultantes en la fracción de acetato de etilo fueron aislados y purificados mediante cromatografía en capa fina a escala preparativa, las manchas caracterizadas fueron recuperados del gel de sílice con metanol, lográndose aislar 6 fracciones, por la concentración mínima de los flavonoides no se encuentran curvas bien definidas. Los espectros de los flavonoides son determinados usualmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos de 240-285 nm (Banda II, B II) y 300 - 550nm (Banda I, B I). Podría indicarse como característica que en dihidroflavonas, hidroflavonoles e isoflavonas la banda I es de baja intensidad (más baja que la banda II).³⁵ en la cromatografía revelada se encontró 6 manchas fluorescentes las observándose en espectro ultravioleta, la curva espectral primero fluorescencia amarilla a una longitud de onda (212 nm y 262 nm), segunda fluorescencia lila (205 nm y 352 nm), tercera fluorescencia marrón (207 y 261 nm, 352 nm), cuarta fluorescencia verde (205 nm y 269 nm), quinta fluorescencia celeste (219 y 261 nm), fluorescencia anaranjado (205 nm y 265 nm), mostradas en el (anexo 9 y 10). En ambos casos se trata de los flavonoides por la semejanza en algunas características como la coloración en luz UV (C/S NH₃) y según la visualización de espectros y la literatura de Lock de Ugaz.³⁵ además los flavonas o flavonoles, exhiben dos bandas de absorción en la región UV visible, banda I representa el anillo A de estos compuestos y aparece en un rango de 320 nmm - 385 nm y la banda II que corresponde al anillo B entre los 250 y 285 nm.⁴⁰ estudios previos demostrarán la presencia de flavonoides en las flores de *Spartium. Junceum* "retama"; se han aislado cinco flavonoides con estructura de catecol en el anillo B a partir del extracto butanólico, tales como: isoquercitrina (quercetina 3 β -glucósido); luteolina 4' β -glucósido; quercetina 3, 4'-diglucósido; azaleatina 3 β -glucósido (quercetina 5-metiléter 3 β -glucósido) y la quercetina 4' β -glucósido.⁴¹ lo cual se evidenció

cualitativamente, luego de la extracción con los diferentes reactivos, con la prueba de Shinoda y la caracterización cromatográfica y espectro UV, se trata de la presencia de isoflavonas, flavonas, Flavonoles como la quercetina en *Spartium Junceum* L. "retama" al dar positivo debido a la presencia del núcleo γ -benzopirona (flavonoides).⁴²

La figura 4, muestra el volumen de orina excretado en función del tiempo, la furosemida, expone la mayor actividad por ser un fármaco cuyo perfil diurético está muy bien definido, siendo el resultado 16,2 ml, como consecuencia de su acción perturbadora sobre el transporte iónico a lo largo de la nefrona, el mismo que es evidenciado gráficamente por la curva de mayor tamaño que describe de forma ascendente hasta un volumen máximo excretado (pico máximo) ocurrido a la tercera hora. La furosemida pertenece al tipo de diuréticos de techo alto que actúan mediante la inhibición del cotransporte de $\text{Na}^+/\text{K}^+ / 2\text{Cl}^-$ de la membrana luminal en la rama ascendente del asa de Henle y tienen mayor eficacia en la movilización de Na^+ y Cl^- del cuerpo.⁴³ también las sustancias de ensayo, flavonoides a 2,5 mg/kg ejerce aparentemente una actividad diurética similar a la furosemida, con un volumen máximo de excreción urinaria 12,3 ml a la tercera hora. Los flavonoides a 5 y 10 mg/kg, en tanto describieron una curva de volumen de excreción urinaria menos pronunciada, aunque con volúmenes máximos de excreción también a la tercera hora (9,7 ml y 8,7 ml). El grupo tratado con (NaCl 0.9 %), no mostró variación importante en el volumen de excreción urinaria. Un aspecto importante demostrado en esta investigación es el comportamiento de los flavonoides similar en el tiempo de excreción al diurético de referencia donde se observó un pico máximo de excreción a la tercera hora (180 min). De igual forma se reporta en la literatura que la furosemida tiene una acción relativamente breve en el organismo, aproximadamente de 4 a 6 horas.⁴³ esto también se hace evidente cuando a la sexta hora la diuresis disminuyó considerablemente en todos los grupos, prácticamente restableciéndose el balance hídrico, a medida que se incrementaron los niveles de dosis de flavonoides, el volumen de orina eliminado fue cada vez inferior, resultado que nos habla a favor de una posible respuesta que no depende de la dosis. La administración de una carga hidrosalina (solución fisiológica) en este ensayo, uniformiza y mejora la respuesta de la sustancia probada; ya que el exceso de agua y electrolitos simula una situación de edema, lo que justifica el empleo de este modelo experimental.⁵ Con relación a los flavonoides la literatura refiere que

los flavonoides poseen efectos diuréticos, como es el caso del flavonoide crisina, al que se le atribuye aumento significativo del flujo de orina, filtración glomerular y excreción de Na⁺ y K⁺. Varios estudios han demostrado con toda claridad que isoflavonoides como genisteína y daidzeína producen inhibición del cotransporte de Na⁺-K⁺-2Cl⁻ y aumentan la natriuresis y kaluresis. Recién se ha reportado que 7- metoxiflavonoides se ligaron de modo activo al receptor de adenosina A1, produjeron antagonismo y consecuentemente diuresis y excreción de sodio.⁴ La figura 5, muestra la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", expresado como volumen acumulado de la orina excretada durante las seis horas, donde la furosemida 20 mg/kg fue mayor, con 58,24 ml seguido por flavonoides a dosis de 2,5 mg/kg de peso con 52,10 ml, que se asemeja a la furosemida, ya que presenta mayor efecto diurético a comparación de otras dosis, así como a la dosis de 5 mg/kg que fue de 40,3 ml y 10 mg/kg que fue de 37,4 ml. El volumen de orina acumulado en el presente trabajo fue mayor con respecto a los resultados obtenidos en la investigación realizada en el Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto" en Cuba, en la valuación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental de ratas, se obtuvo que a dosis de 200 mg/kg de peso y 400 mg/kg de peso el volumen de orina eliminado durante las 24 horas llegó a medir 30,12 ml y 34,12 ml, respectivamente que estas son las dosis que producen un mejor efecto diurético a comparación de otras dosis.⁴ en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el trabajo de investigación la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "Capulí" en *Cavia porcellus* "cobayos" a dosis de 100 mg/kg de peso obtuvo un volumen de 38,20 ml de orina que indica mayor actividad diurética.⁴⁴ esta diferencia de resultados en el volumen de orina podría deberse, a la diferencia del tipo de extractos además se trabajó con los flavonoides aislados, así como factores propios del animal (estrés, peso, edad, alimentación).

La figura 6, resalta la excreción volumétrica urinaria se expresa como porcentaje a diferentes tiempos, calculado dividiendo el volumen de orina excretado entre el volumen de líquido administrado y multiplicado por 100, en donde se obtiene como resultado que la furosemida presenta porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU) máximo 61,87 %, a la tercera hora siendo mayor en comparación a los diferentes tratamientos, pero a dosis de 2,5 mg/kg de peso

fue 41,90 % máximo a la tercera hora, lo cual indica que tiene una actividad diurética muy próxima al fármaco de referencia, a comparación de los estudios realizados en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R&p "qenoa" la (% EVU) fue 67,42 % a una dosis de 400 mg/kg de peso, ya que es la dosis que produce mayor actividad diuretica.⁴⁵ En el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) pers "kimsa cuchu", la excreción volumétrica urinaria (%EVU) fue de 60,67 % a una dosis de 200 mg/kg de peso, así mismo es la dosis que tiene un mejor efecto diurético.⁴⁶ en ambos estudios trabajaron con el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos; los resultados se asemejan por el material biológico que son los cobayos y la metodología, pero la variación podría ser porque se trabajó con las diferentes partes de la planta así como (hojas, tallos, flores) y diferentes dosis la dosis, además algunos autores señalan en cuanto al mecanismo de acción diurético de los metabolitos se debe a los aceites esenciales, saponósidos, bases xantínicas y sales de potasio también podrían actuar a nivel glomerular más que en el túbulo, provocando un aumento de la circulación renal e incrementando así la tasa de filtración glomerular y la formación de orina primaria.⁴⁷ en este caso al aislar los flavonoides se separa los aceites esenciales, saponósidos y otros componentes que también podrían estar involucrados en este mecanismo de la diuresis.

La figura 7, plasma la distribución de las medias de las áreas bajo la curva (ABC) de los tratamientos. El ABC es un parámetro farmacocinético que en biofarmacia representa la concentración de un fármaco.⁴⁸ en este caso no se trazan concentraciones de sustancias en orina, sin embargo se monitoriza el volumen de orina excretado por unidad de tiempo donde se puede observar curvas de diuresis por lo que este modelo es aplicable para fines de contraste y cálculo de eficacia, se puede observar que los flavonoides ejercen un efecto diurético respecto al grupo blanco, pero que no depende de la dosis. La furosemida, por haber provocado mayor diuresis posee la mayor área bajo la curva 52,18 ml/min, luego los flavonoides a 2,5 mg/kg fue 46,10 ml/min a dosis de 5 mg/ml fue 34,82 ml/min y a 10 mg/kg fue 31,73 ml/min. Luego de realizar las pruebas de comparaciones múltiples de Dunnett, anexo 13 de las áreas bajo la curva, se demostró que los flavonoides a dosis de 2,5 mg/kg son similares estadísticamente con la furosemida ($p > 0,05$). La prueba de Duncan anexo 14

nos muestra que son similares únicamente con las dosis de 5 y 10 mg/kg, lo que demuestra la similitud estadística del efecto diurético con la dosis de 2,5 mg/kg y la de furosemida. Drogas con flavonoides afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello integrado por el efecto vasopresor capilatropo que mejora la microcirculación a nivel de todo el organismo.⁴⁹ la evaluación de la actividad diurética de varios flavonoides aislados de plantas, cuyo resultado son similar al comportamiento de las tiazidas, recientemente, se ha comprobado que los flavonoides contribuyen sustancialmente a la actividad diurética de la especie *Boldoa purpurascen Cav*, de la que aislaron y caracterizaron químicamente los flavonoides (4',5 - dihidroxi - 6,7 - metilendioxiflavona - 3 - O - L - ramnopiranosil-(1,2) - L - arabinopiranosida y 4',5 - dihidroxi - 6,7 - metilendioxiflavona - 3 - O - D - xilopiranosida) para los cuales se demostró actividad diurética *in vivo* en dos de estos compuestos.⁵⁰

La actividad diurética obtenida en el siguiente trabajo de investigación fue a dosis de 2,5mg/kg de peso de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", donde se obtuvo (A.D = 80 %), ya que presenta una actividad diurética mayor a otras dosis, los resultados obtenidos se asemejan a los estudios realizados en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Coaquira, en el estudio de, actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calciolaria engleriana Kranzlin feddes pepert* "wawillay" en *Cavia porcellus* "cobayos", fue de (A.D = 89,5 %) a una dosis de 350 mg/kg de peso.⁵¹ Poma, en él estudió la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. "romero" en *Cavia porecellus* "cobayos", la actividad diurética fue de (A.D = 100 %) a dosis de 200 mg/kg de peso.⁵² Ramos, en la evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "Lengua de perro", fue de (A.D = 50 %) a dosis de 200 mg/kg de peso.⁵³ Torres, en la actividad diurética del extracto de hojas y tallos de *Ortica urens* L. "ortiga común", fue de (A.D = 89 %) a dosis de 300 mg/kg de peso.⁵⁴ Peres, en el efecto diurético del extracto hidroalcohólico en los tallos de *Bacharis genistelloides* (Lam) Pers "kimsa kuchu", fue de (A.D = 86,68 %) a una dosis de 200mg/kg de peso.⁴⁷ Salazar en el estudio de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. en "Capuli" en *Cavia porcellus* "cobayos" a dosis de 100 mg/kg de peso fue (A.D = 76 %).⁴⁴

La variación de la actividad diurética, se debió a que se trabajó con las diferentes partes de las plantas como es el caso de hojas, tallos, flores, ya que también el metabolito secundario varía en los diferentes especies de las plantas y como a factores propios de los animales (raza, peso, estrés de los animales), al tipo de extracto acuoso y hidroalcohólico, pero en los diferentes estudios se trabajó con el mismo material biológico y la misma metodología.

Los flavonoides aislados, son las que poseen la característica diurética, así como la isoflavonas, flavonas y flavonoles como la quercetina, ya que han demostrado tener la actividad diurética por la que se asemeja a la furosemina que es un diurético de alta eficacia a la dosis de 2,5 mg/kg de peso y hay una leve respuesta a dosis de 5 mg/kg de peso; al compararlos con el control y la fármaco de referencia. Siendo la actividad diurética (80 %) a dosis de 2,5 mg/kg de peso y es más eficaz. Cabe destacar que en el presente investigación se obtuvieron resultados de una relación inversa con la concentración de los flavonoides aislados; es decir a mayor dosis, disminuye la actividad diurética, ya que no se cumple el principio de dosis respuesta, esto podría deberse posiblemente a la saturación de los receptores que impiden un mejor efecto diurético a una mayor dosis, como también podría estar desencadenando mecanismos de supresión de la diuresis por otra vía, probablemente por la disminución del flujo sanguíneo regional o por vías osmótica o no osmótica, que son dos eventos que regulan la síntesis y liberación de vasopresina, una hormona antidiurética.⁵⁵

VI. CONCLUSIONES

1. Los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" presenta actividad diurética
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" son: Flavonoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, lactonas, cumarinas, fenoles y taninos, aminoácidos.
3. La dosis diurética más eficaz es a dosis 2,5 mg/kg de peso a comparación de 5 mg/kg y 10 mg/kg de peso.

VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con las investigaciones farmacológicas de recursos propios de nuestro departamento, con la finalidad de encontrar plantas medicinales con diferentes principios activos eficaces para las diversas patologías.
2. Se recomienda a los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, seguir realizando estudios de las diferentes propiedades de *Spartium junceum* L. "retama", con la fracción aislada de flavonoides y cuantificación.
3. La infraestructura de laboratorio debe ser adecuado e implementado para este tipo de ensayos farmacológicos tomándose en cuenta ciertos factores ya que influyen en su fisiología y contribuyen al estrés de los cobayos y por ende alterar los resultados finales.
4. El uso de animales de experimentación en estudios de investigación es de vital importancia por lo que se recomienda a los alumnos y docentes que trabajan con ellos poner bastante atención con el cuidado y alimentación, ya que son factores que finalmente juegan un papel importante en la ejecución de cualquier tipo de investigación.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pino S, Prieto S, Pérez M, Molina J. Género *Erythrina*: Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. Acta Farm. Bonaerense [Revista on-line]. 2004, octubre - noviembre [acceso el 08 de agosto del 2015] , 23 (2): 252 - 258 Disponible en:
http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/2/LAJOP_23_2_5_3_5CCQ1E589W.pdf
2. Huamani M, Ruiz A. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida Albicans* y *Aspergillus Niger* de 10 plantas medicinales de 3 Departamentos del Perú. [tesis on-line]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia Y Bioquímica E.A.P. de Farmacia y Bioquímica. Lima - Perú. 2005. Disponible en :
http://cybertesis.UNMSM.edu.pe/bitstream/cybertesis/1278/1/Huamani_am.pdf
3. Saragoza F. I Congreso de Fitoterapia. Flavonoides y fitoterapia. Revista de fitoterapia. [Revista on-line].2002.abril-mayo. [Acceso el 25 de setiembre del 2015] 2(1): 21-32. Disponible en:
http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF2_1_FLAVONOIDES.pdf
4. Martínez S, Jiménez M, Del Rio S, Pérez J, Maceira M, Morales Z, et al. Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas. Rev. Cubana de Plantas Medicinales. [Revista on-line]. 2012; octubre-diciembre. [Acceso 18 de octubre 2015] 17(4): 431-438. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962012000400014&script=sci_arttext
5. Castillo S, Castillo E, Reyes C. Efecto diurético de *Phyllanthus niruri* "chanca piedra" y niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus* var. *Albinus*. UCV Scientia. [Revista en línea]. 2011; enero - mayo. [Consultado 22 de Agosto 2015]; 3(1):122-127.
Disponible en: <http://revistas.concytec.gob.pe/pdf/scientia/v3n1/a02v3n1.pdf>
6. Vargas C. Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata* (Willd) Irwin & Barneby (Retama) [tesis on-line] Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica Escuela de Post-Grado. Lima - Perú 2007. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2585/1/Vargas_cc.pdf
7. Sayas N. Screening fitoquímico y determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las flores del *Spartium junceum* "retama". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú, 2003.
8. Prado N. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K "sauco" en cobayos. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú, 2005.
9. Mayhua H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú, 2008.
10. Rojas J, Arroyo J, Alfonso M. Actividad diurética del extracto metanólico de las hojas de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) en ratas .Rev. Cubana de

- plantas medicinales. [Revista on-line] .2009, noviembre-diciembre [Acceso 20 de setiembre 2014] . 14 (4):432 - 438. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962009000400004&lng=es.
11. Alviz A, Salas R, Franco L. Efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) en ratas normales. Rev.Biomédica. [Revista on - line]. 2013; octubre-diciembre. [Consultado 10 de setiembre 2015]. 33:115-21. Disponible en:
<http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/611>
 12. Juárez F. Aportes botánicos de Salta - Ser. Flora. [Revista en línea].2001; octubre. [Acceso 20 de setiembre de 2015]; 6(10): 11 - 12. Disponible en:
<http://www.unsa.edu.ar/biblio/herbario/flora/vol6/pdf/11.%20FABACEAE.pdf>
 13. Laura A. Trabajo de investigación. Leguminosas de la Provincia de Huamanga. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú. 2010.
 14. MHT Medicamentos Herbarios Tradicionales. Medina L. [Base de datos en internet] .En Teillier (s/d) .2008, [Acceso 20 de octubre de 2015]; Disponible en:
<http://web.minsal.cl/portal/url/item/7d9a8480e07a1613e04001011e01021b.pdf>
 15. Estrada R, Ubaldo D, Araujo AG. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central.Rev. Salud Mental. [Revista on-line]. 2012, setiembre- octubre. [Acceso 22 de diciembre del 2015]; 35:375-384 .Disponible en:
<http://scielo.unam.mx/pdf/sm/v35n5/v35n5a4.pdf>
 16. Russo O, Sánchez M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. Rev. Costarr Cardiol. [Revista on-line].2006, enero – abril. [Acceso 22 de enero de 2015]; 8(1). Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rcc/v8n1/3213.pdf>
 17. Ballester I, Camuesco D, Galvez J, Sanchez de Medina F, Zarzuelo A. Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal. Rev. Ars Pharm [Revista on-line]. 2006, octubre-noviembre; [Acceso 22 de enero del 2015] 47 (1): 5- 21. Disponible en: <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/339.pdf>
 18. Puebla P, Guerrero M, Correa S .Flavonoides del genero Croton. Rev. Col. Ciens. [Revista on-line].2004, marzo –mayo, [Acceso 13 de agosto del 2015] .33 (1); 77-80.
 19. Martínez J, González J, Gallego M, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Rev. Nutr. Hosp. [Revista on-line]. 2002; 17 (6): 271- 278. Disponible en:
http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF2_1_FLAVONOIDES.pdf
 20. Toirac A, Pascual V. El riñón y el aparato excretor urinario en la embarazada. Consideraciones básicas Hospital Gineco obstétrico Docente "Tamara Bunke Bider", Santiago de Cuba Medisan [Artículo de revisión] 2013; [Acceso 22 de febrero de 2015]. 17(2):357. Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol_17_2_13/san16213.pdf
 21. Guyton A. Tratado de fisiología médica.7^{ma} ed.Mexico. InteramericanaMac Graw-Hill. 1995
 22. Gamboa R, Rospigliosi A. Más allá de la hipertensión arterial, Acta Med Per [Artículo de revisión]. 2010, setiembre - octubre [acceso 20 de octubre del 2015]; 27(1). Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v27n1/a09v27n1>
 23. Apestequia J. Efecto diurético del zumo del fruto del limón (*Citrus limón* L.) en ratas de experimentación. [Tesis] .Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica Unidad de Postgrado. Lima - Perú. 2009

24. Foye W. principios de química farmacéutica. Segunda edición. Editorial Reverte S. A. Barcelona - España. 1991.
25. Velasquez L. Farmacología y su proyección a la clínica. Oteo.Madrid-España.1984.
26. Pérez M, Francisco J. Morón R. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Rev. Latinoamericana de Hipertensión. [Revista on-line]. 2011, enero-marzo. [Acceso 20 de mayo 2015]; 6(2). Disponible en: http://www.revistahipertension.com/rh_6_2_2011/h3.pdf
27. Bernis C. Diuréticos y fracaso renal agudo. [Revista on-line]. Madrid: Nefrología; 2010. [Acceso 27 de junio de 2015]. Disponible en: <http://www.revistanefrologia.com/revistas/P3-E511/P3-E511-S2739-A10732.pdf>.
28. Remington. Farmacia 7^{ma} ed. Buenos Aires. Médica panamericana. 1987.
29. Litter M. Compendio de farmacología 4^{ta} ed. Argentina .Ateneo. 1996.
30. Katzung B. Farmacología básica y clínica. Séptima edición Edit. "El manual moderno" S.A. México.
31. Aramendia P. Medicamento. El ateneo. Buenos Aires - Argentina.1982.
32. Durango K, Arias A. Diuréticos y su uso en síndrome nefrótico Revista ciencias Biomédicas [artículo on-line] julio-diciembre 2012;3(2):312-316.Disponible en: <http://www.revista.spotmediav.com/pdf/3-2/18ADIURETICOSYSUUSO.pdf>
33. Miranda M, Cuellar M. Métodos de análisis de drogas y extractos, Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba. 2000.
34. Aguilar E. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña". Fondo Editorial de la EFP de Farmacia y bioquímica UNSCH. 3(1), pag.1 - 5, Ayacucho - Perú. 2010.
35. Lock de Ugaz. Investigación fitoquímica. métodos en el estudio de productos naturales.2^{da} ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. fondo editorial.1994.
36. Cotillo P. "métodos farmacológicos en la investigación de los productos naturales". Jarmad. 1990.
37. Jimenez L, Padilla MC, Herrera R, Garcia S, Cadenas JL. Efecto diurético de *Xanthium strumarium* L. (guizajo de caballo). Rev Cubana Plant Med 1999; 4(1): 22 - 25.
38. Habib N, Daud A, Sánchez A. Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas. Rev Cubana Plant Med. 2005; 10(4): 20 - 22.
39. Pariona Y. Actividad hepatoprotectora de los flavonoides aislados de las hojas *satureja brevicalex* Epl "wayra muña" en las ratas Albinas. [tesis] .Universidad Nacional de san Cristobal de Huamanga Facultad de Ciencias Biológicas Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho - Perú. 2011.
40. Gutierrez Y, Miranda M, Teresian A, Barrio G. Analisis de flavonoides en una fracción butanólica obtenida de *Phyllanthus orbicularis* HBK. Revista cubana de farmacia. [Revista on - line]. 2010, abril - mayo 44(3); 367 - 373, Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v44n3/far11310.pdf>
41. Yeşilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. Journal of ethnopharmacology. 2000: 73(3), 471- 478. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874100003275>

42. Flórez J. Farmacología Humana. 3a edición. Barcelona: Editorial Masson; 1997.
43. Ashokkumar D, Narayana TV, Vidyasagar, Mazumder UK, Gupta M. Exploration of diuretic potential and electrolyte excretion of *Tephrosia purpurea* (Fabaceae) in rats. Journal of dietary supplements. 2012; 9(1): 9-18. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/19390211.2011.630715>
44. Salazar A. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. en "capulí" en *Cavia porcellus* "cobayo". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas escuela de Formación Profesional Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – Perú. 2012.
45. Quintana C. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R&p "qenoa". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de formación profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2013.
46. Peres T. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) pers "kimsa cuchu" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de formación profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú .2012.
47. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Marrero E. Trabajo original Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. [Revista on - line] 2011; enero - febrero. [Acceso 10 de junio 2015]. 30 (3): 332 - 344. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v30n3/ibi04311.pdf>
48. Cid CE. Introducción a la farmacocinética. Santiago: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas; 1982.
49. Coloma H. Evaluación de la actividad diurética del jugo de caña agria (*costus spicatus*) en ratas (*Rattus norvegicus*). [Tesis virtual]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia Riobamba - Ecuador 2015. Disponible en: [http://dSPACE.espech.edu.ec/bitstream/123456789/4539/1/56T00579%20UDC TFC.pdf](http://dSPACE.espech.edu.ec/bitstream/123456789/4539/1/56T00579%20UDC%20TFC.pdf)
50. Pérez M, Morón R. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Revista latinoamericana de hipertensión. 2011; 6(2): 35 - 40. Disponible en: [http://biblat.unam.mx/revista/revista-latinoamericana-de hipertensión/articulo/consideraciones-farmacologicas-sobre-principios-activos-en-plantas medicinales-con-actividad-diurética](http://biblat.unam.mx/revista/revista-latinoamericana-de-hipertension/articulo/consideraciones-farmacologicas-sobre-principios-activos-en-plantas-medicinales-con-actividad-diuretica)
51. Coaquira B. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engleriana* Kranzlin Feddes Repert "wawillay" en *cavia porcellus* "Cobayo". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2011.
52. Poma H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinales* L. "romero" en *Cavia porcellus* "cobayo" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2012.
53. Ramos G. Evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "Lengua de perro" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Facultad ciencias biológicas.

Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2011.

54. Torres M. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Urtica urens* L. "ortiga común" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2012.
55. Tessler J, Errasti A, Rothlin R, Farmacología general. farmacodinamia. [Base de datos en línea], Perú - 2007. [Acceso el 10 de mayo del 2016]. Disponible en: <https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/03/farmacodinamia.pdf>

IX. ANEXOS

ANEXO 1

Certificado de la muestra de *Spartium junceum* L. "retama" procedente del distrito de Vischongo, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho. 2015.



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

C E R T I F I C A

Que la Bach en Farmacia y Bioquímica, Srta. Yovana, POMAHUACRE PALOMINO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis

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

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	ROSIDAE
ORDEN	FABALES
FAMILIA	PAPILIONACEAE
GENERO	<i>Spartium</i>
ESPECIE	<i>Spartium junceum</i> L.
N V	"retama "

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

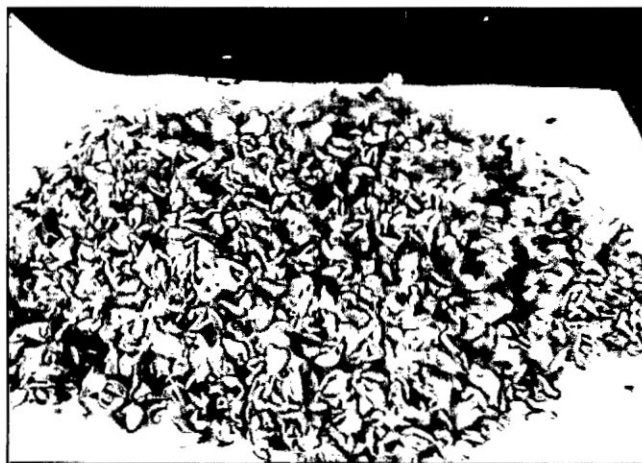
Ayacucho, 19 de Mayo del 2015

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

Bla. Laura Aducci Medina
JEFE

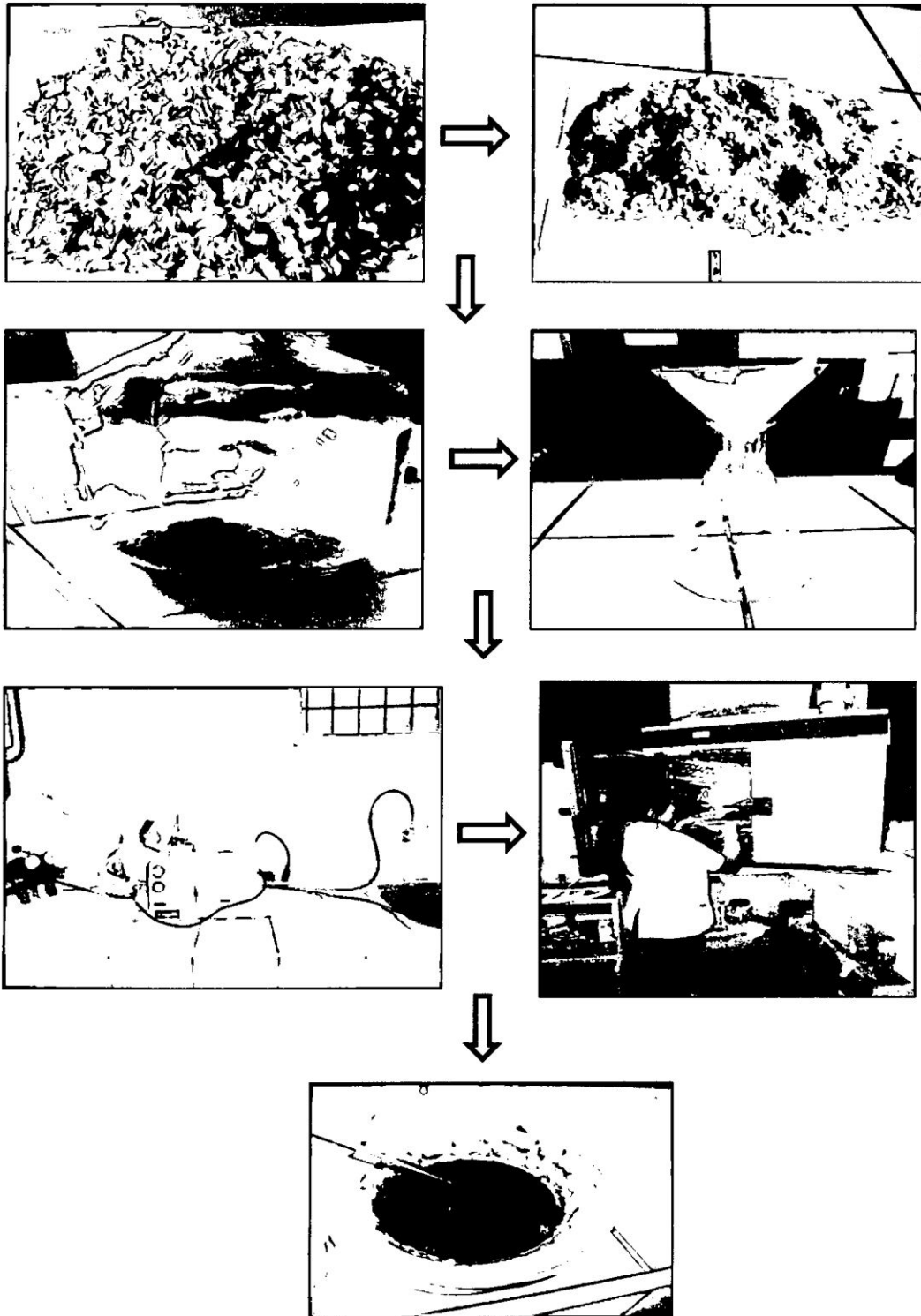
ANEXO 2

Flores de *Spartium junceum* L "retama" del distrito de Vischongo, provincia de
Vilcashuamán, departamento de Ayacucho.2016.



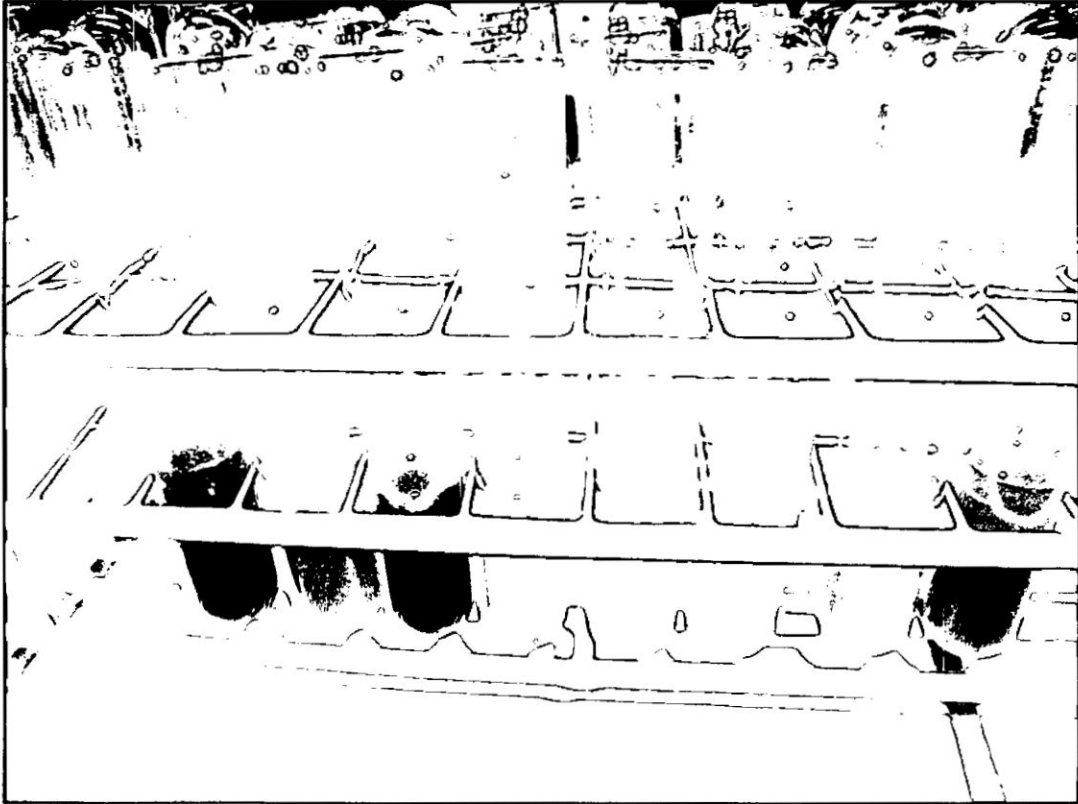
ANEXO 3

Extracción hidroalcohólica de las flores de *Spartium junceum* L "retama" en el laboratorio de farmacognosia - Ayacucho 2016.



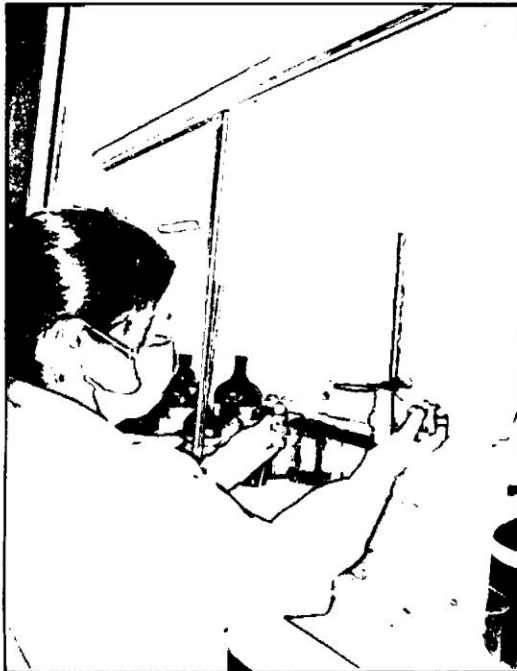
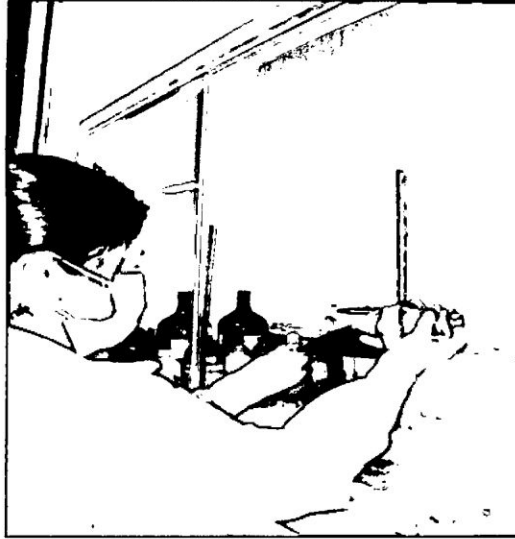
ANEXO 4

Tamizaje Fitoquímico de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", en el laboratorio de farmacología. Ayacucho - 2016.



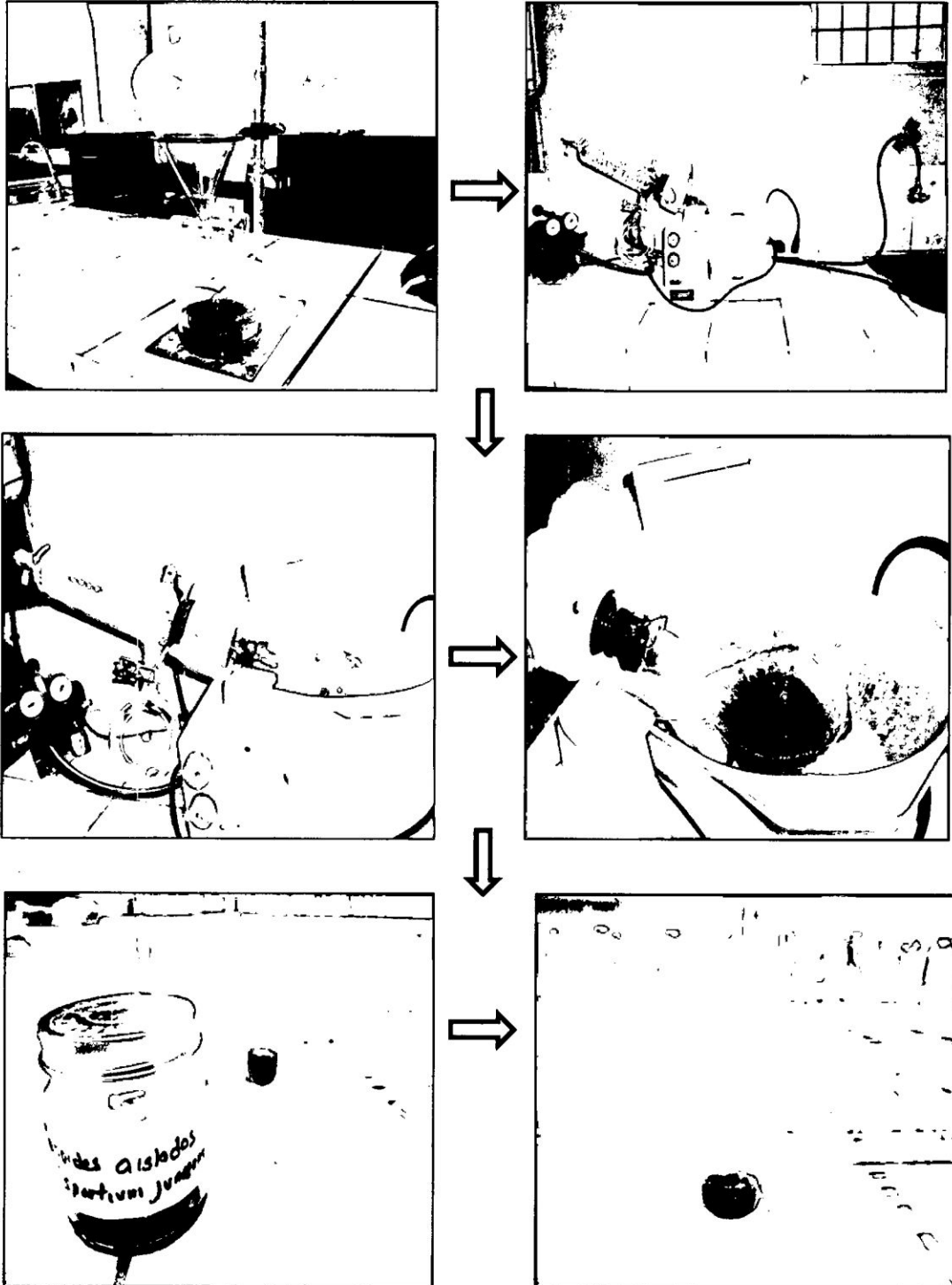
ANEXO 5

Extracción de flavonoides mediante el proceso de extracción sucesiva de líquido a líquido utilizando un embudo de separación con los diferentes reactivos en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.



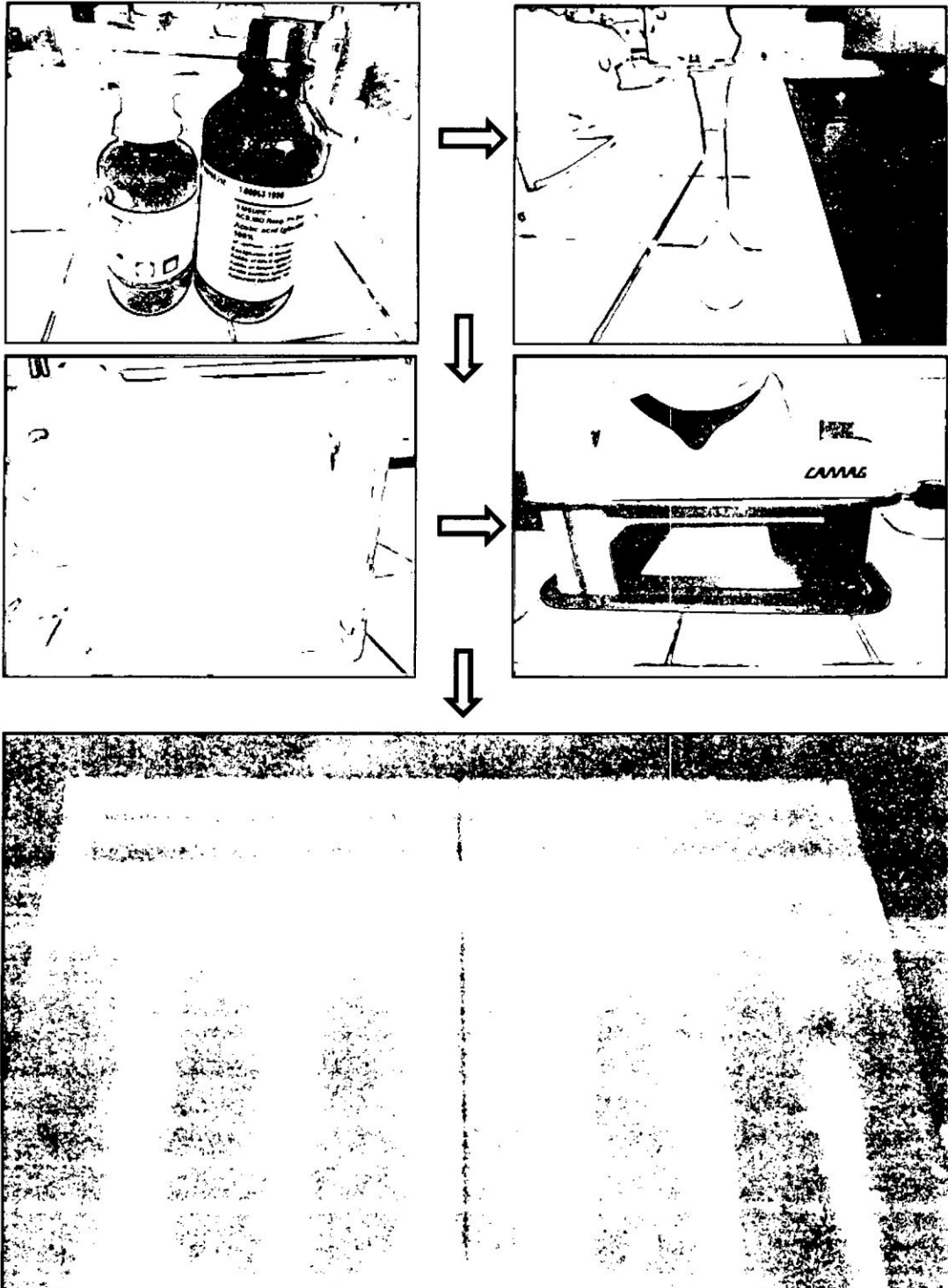
ANEXO 6

Recuperaciones del reactivo de acetato de etilo con el Rotavapor BUCHI y concentración de los flavonoides en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho -2016.



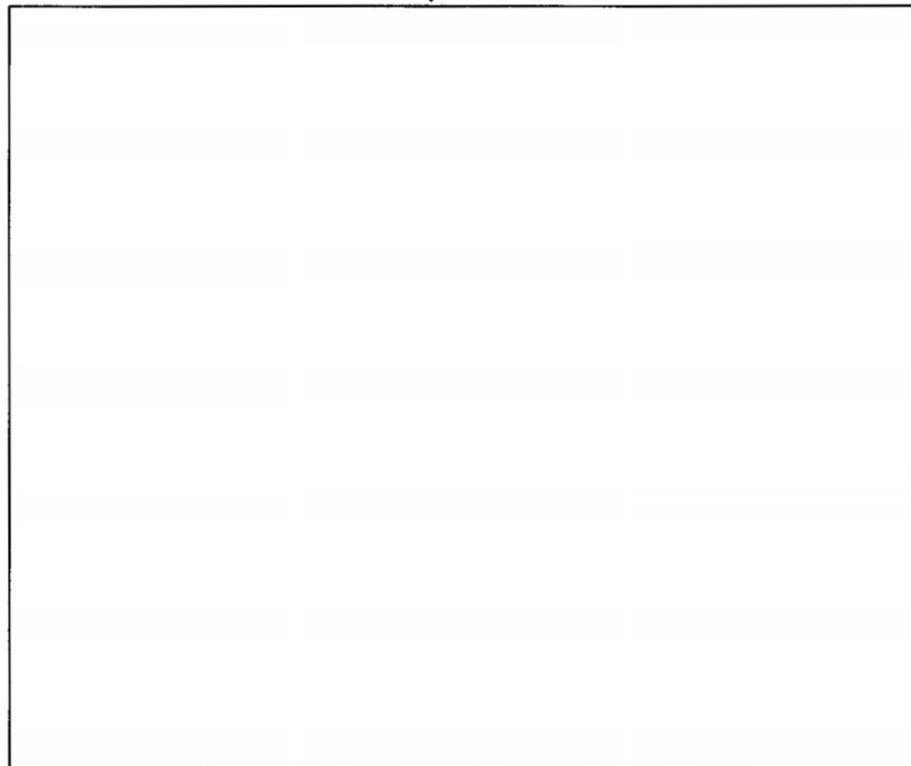
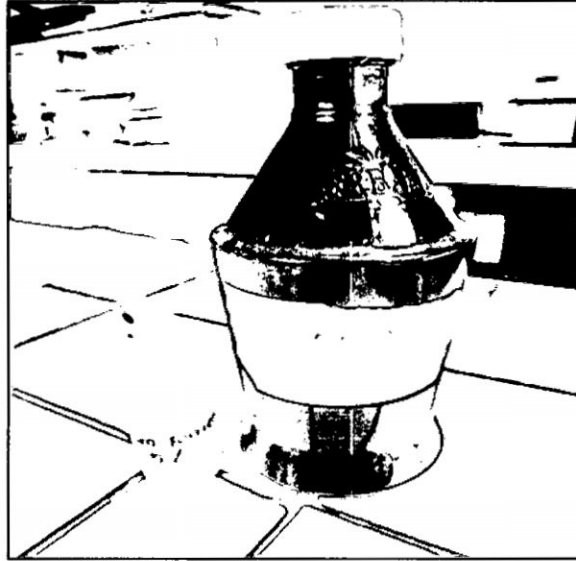
ANEXO 7

Sembrado, corrido y desarrollo de la placa cromatografica (CCF) de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L "retama", en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.



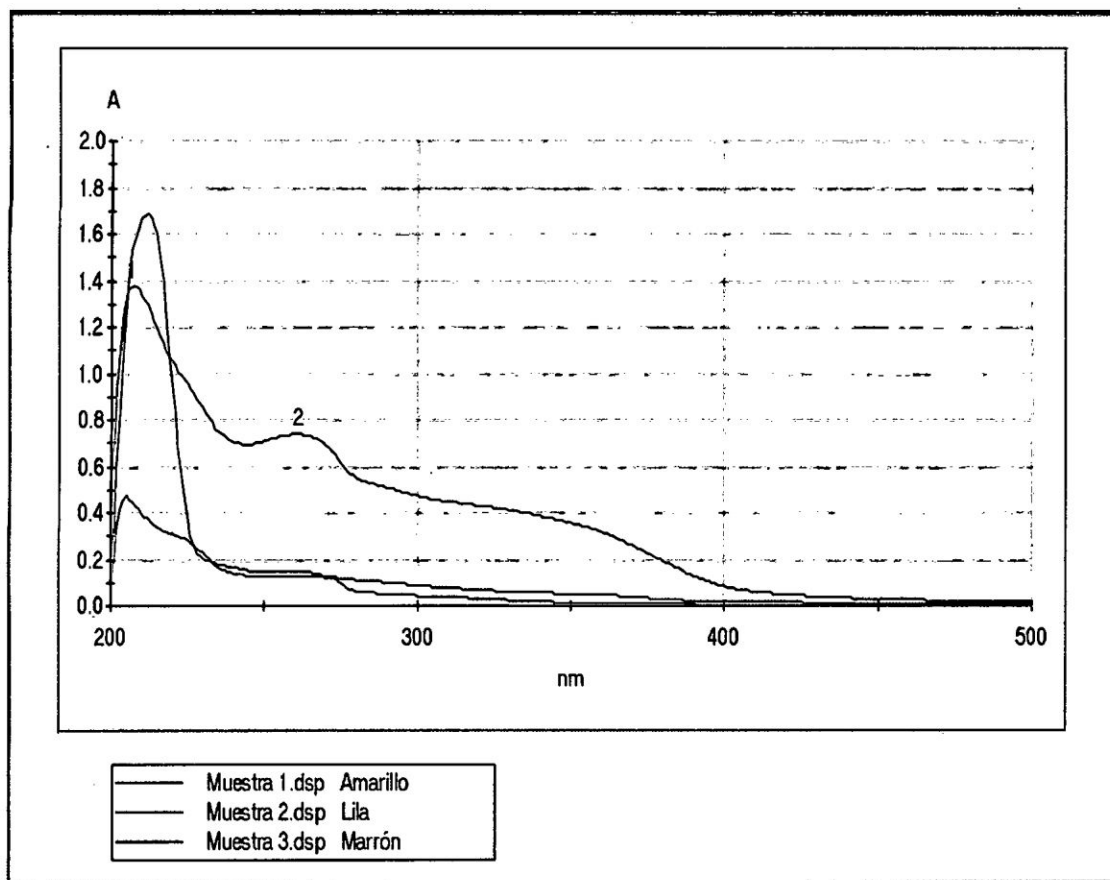
ANEXO 8

Revelado con cloruro férrico al 1% de la placa cromatográfica (CCF) de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L "retama", en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho - 2016.



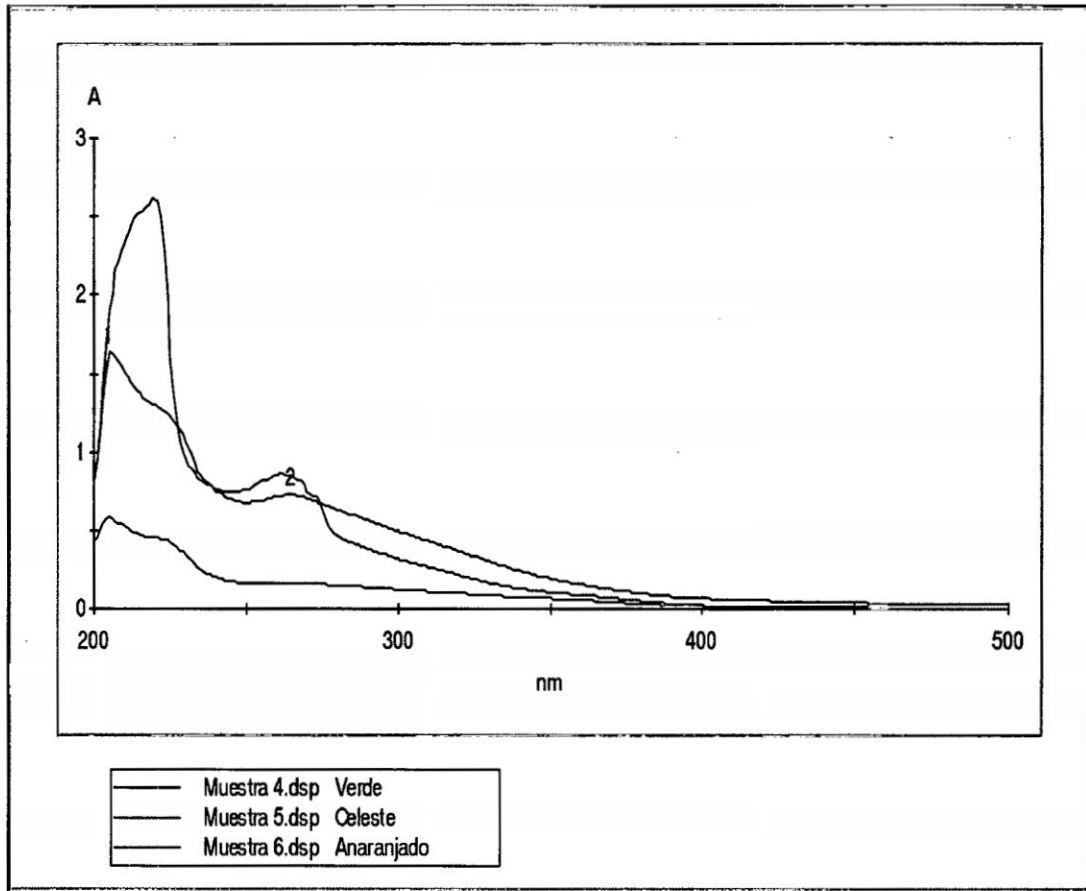
ANEXO 9

Gráficos observados en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm, en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho – 2016.



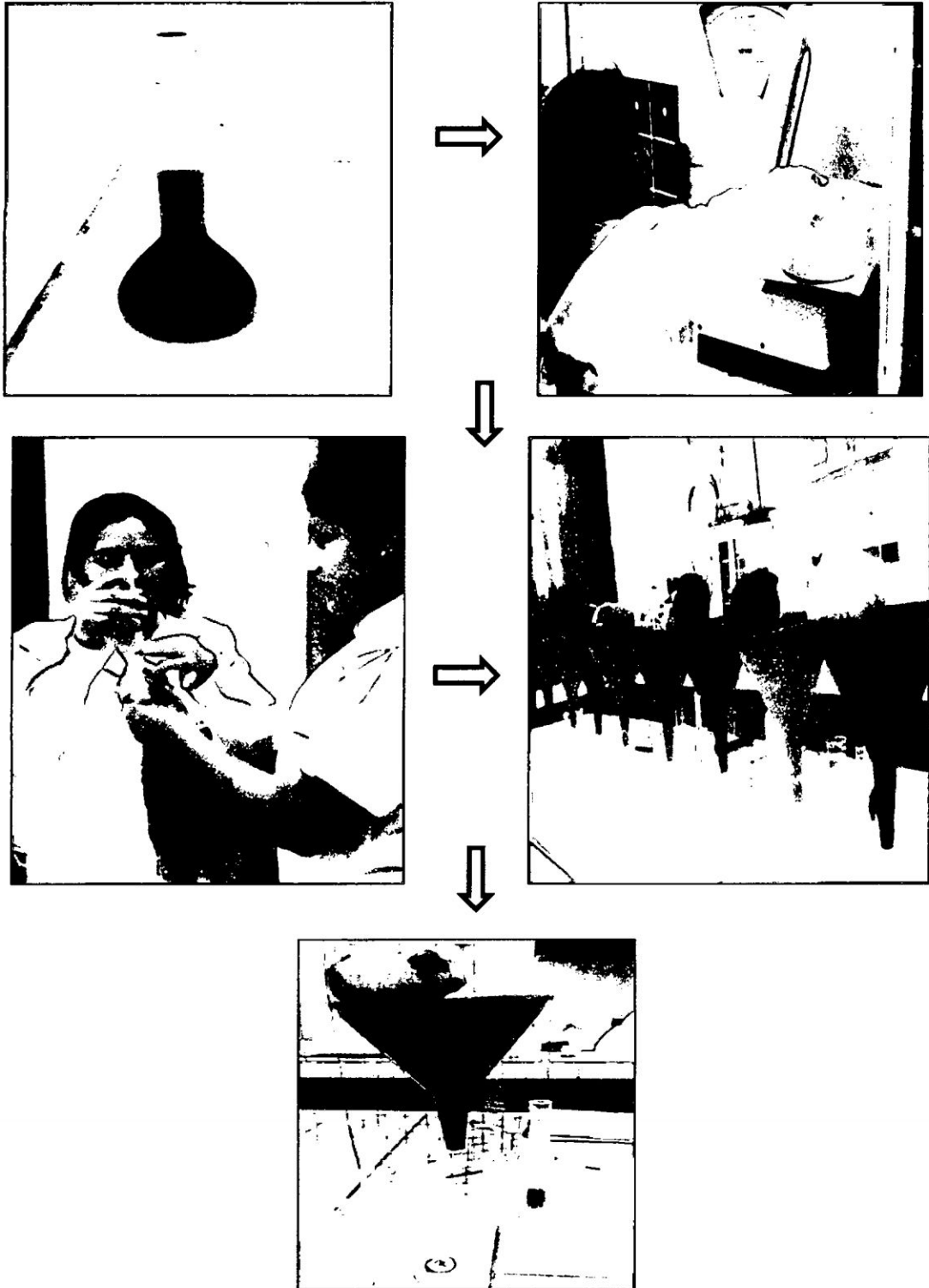
ANEXO 10

Gráficos observados en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm, en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho – 2016.



ANEXO 11

Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", en el laboratorio de farmacología. Ayacucho - 2016.



ANEXO 12

Análisis de varianza de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" en los diferentes tratamientos. Ayacucho - 2016

ANOVA					
AREA BAJO LA CURVA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1374,294	3	458,098	13,262	,0001
Dentro de grupos	552,677	16	34,542		
Total	1926,972	19			

ANEXO 13

Comparaciones múltiples con la prueba de Dunnett de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" en los diferentes tratamientos. Ayacucho - 2016

Variable dependiente: AREA BAJO LA CURVA						
T de Dunnett (bilateral) ^a						
(I) Tratamiento	(J) Trata- miento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Flavonoides 2,5 mg/kg	Furose- mida	-6,086000	3,71711	,273	-15,7220	3,55003
Flavonoides 5,0 mg/kg	Furose- mida	-17,36000*	3,71711	,001	-26,9960	-7,72397
Flavonoides 10,0 mg/kg	Furose- mida	-20,44800*	3,71711	,001	-30,0840	-10,8119

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

ANEXO 14

Comparación de tratamientos con la prueba de Duncan de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" en los diferentes tratamientos. Ayacucho - 2016.

Duncan ^a			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
flavonoides 10,0 mg/kg	5	31,73400	
flavonoides 5,0 mg/kg	5	34,82200	
flavonoides 2,5 mg/kg	5		46,09600
Sig.		,214	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.

TITULO: "Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", Ayacucho 2015.

RESPONSABLE: Pomahuacre Palomino Yovana, Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>¿Tendrá actividad diurética los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama" en cobayos?</p>	<p>General -Evaluar la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama".</p> <p>Específicos -Identificar los metabolitos secundarios presentes en las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama". -Determinar la dosis diurética más eficaz de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama".</p>	<p><i>Spartium junceum</i> L. "retama" Es una planta arbusto, perenne, que alcanza aproximadamente 3m de altura. Todo el año se encuentra cubierto de hojas verdes y flores amarillas en racimo. Tallo: Semi leñoso ramificado, fotosintético, con gran cantidad de fibras corticales resistentes a la tracción. Hojas: Muy reducidas pequeñas, simples, sésiles, alargadas y ovoides, alternas con un nervio central definido y cuenta con numerosos pelos en el envés. Flores: Grandes amarillas papilionadas, heteroclamídeas, zigomorfas y bisexuales. Fármacos diuréticos Son agentes que elevan la velocidad de excreción urinaria por los riñones, principalmente a través de una reducción de la reabsorción tubular del ión sodio y de su equivalente osmótico de agua en los túbulos renales. La acumulación excesiva de fluido en los compartimentos extracelulares puede deberse a una insuficiencia cardíaca, cirrosis hepática, trastornos renales. Furosemida: Posee un grupo bencensulfamilo halogenado adyacentes, 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. La furosemida es más efectiva en inducir diuresis, incluso con función renal disminuida.</p>	<p>Los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama" presentan actividad diurética.</p>	<p>Variante independiente Los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama"</p> <p>Indicadores Variación de las concentraciones</p> <p>Variante dependiente Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de <i>Spartium junceum</i> L. "retama".</p> <p>Indicadores -Volumen de orina -Peso del animal</p>	<p>Tipo de investigación Experimental</p> <p>Nivel de investigación: Estimulo creciente</p> <p>Muestra 8g de flavonoides aislados de las flores secas de <i>Spartium junceum</i> L. "retama"</p> <p>Animales de experimentación 25 cobayos machos con un peso de 400-600gramos.</p> <p>Método: Método de Naik y Col. modificado por la cátedra de UNMSM.</p> <p>Análisis de datos Se realizará análisis de varianza ANOVA y la prueba de Duncan, Dunnett con un 95% de confianza.</p>

Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", Ayacucho - 2015

Pomahuacre Palomino Yovana ¹, Johnny Aldo Tinco Jayo²
Farmacia y Bioquímica: UNSCH

RESUMEN

En la actualidad el uso de los diuréticos representa una excelente alternativa como terapia inicial de las enfermedades renales, hipertensión arterial y en situaciones edematosas, por ello el siguiente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama". La investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de febrero a abril 2016. Los flavonoides se aislaron utilizando la técnica de Aguilar que consiste en la extracciones sucesivas, la evaluación de la actividad diurética se empleó el método de Naik y et al, se utilizaron 25 cobayos machos de 400 a 600 gramos repartidos al azar en 5 grupos, se administró al grupo I furosemida 20 mg/kg, grupo II 50 ml/kg de NaCl 9 % y grupo III, IV, V los flavonoides aislados 2,5;5 y 10 mg/kg de peso posteriormente se colocó a jaulas diuréticas durante las 6 horas. Se obtuvo aproximadamente 8 g de flavonoides totales que fueron confirmados por la prueba de Shinoda, cromatografía y espectro UV evidenciándose isoflavonas, flavonas y flavonoles como la quercetina, la actividad diurética de los flavonoides aislados expresada como volumen acumulado de orina excretada en función al tiempo durante las 6 horas fue de 52,10 ml a dosis de 2,5mg/kg, seguido a la dosis de 5 mg/kg que fue de 40,3 ml y 10 mg/kg que fue de 37,4 ml, la furosemida 20 mg/kg fue 58,24 ml; cuyos resultados se realizó el análisis de varianza de ANOVA, seguido de la pruebas de Duncan, Dunnet, para evaluar la diferencia significativa que existe entre los tratamientos, encontrándose que la dosis de 2,5mg/kg es más eficaz y similar a la furosemida ($p > 0,05$). Se concluye que los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama" presenta actividad diurética.

Palabras clave: Diurético, *Spartium junceum* L. "retama", furosemida, flavonoides.

SUMMARY

Currently the use of diuretics is an excellent alternative for initial therapy of kidney diseases, hypertension and edematous situations, so the next job was to evaluate the diuretic activity of flavonoids isolated flowers spartium L. "broom". The research was conducted in the laboratories of Pharmacognosy and Pharmacology at the Professional School of Pharmacy and Biochemistry, Faculty of Health Sciences of the National University of San Cristobal de Huamanga, during the months of February to April 2016. The flavonoids were isolated using technique Aguilar consisting of the successive extractions, the evaluation of the diuretic activity method Naik and et al was used, 25 male guinea pigs of 400 were used 600 grams divided randomly into 5 groups, was administered to group I furosemide 20 mg / kg, group II 50 ml / kg of NaCl 9% and group III, IV, V flavonoids isolated 2.5, 5 and 10 mg / kg subsequently placed diuretic cages for 6 hours. about 8 g of total flavonoids were confirmed by testing Shinoda, chromatography and UV spectrum demonstrating isoflavones, flavones and flavonols such as quercetin, the diuretic activity of isolated flavonoids expressed as accumulated volume of urine excreted a function of time was obtained for 6 hours was 52.10 ml dose of 2.5mg / kg followed at a dose of 5 mg / kg was 40.3 ml and 10 mg / kg was 37.4 ml, furosemide 20 mg / kg was 58.24 ml; The results of the analysis of variance ANOVA followed by the Duncan test, Dunnet to assess significant difference between treatments, being the dose 2.5mg / kg is more effective and similar to furosemide was performed ($p > 0.05$). It is concluded that flavonoids isolated flowers spartium L. "broom" has diuretic activity.

Keywords: Diuretic, spartium L. "broom", furosemide, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace miles de años. Durante mucho tiempo los remedios naturales, sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso terapéutico disponible. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y se ampliara la experiencia en el empleo de los productos que se extraen a partir de ellas. En la práctica moderna, esto supone un segmento no controlado de la terapia farmacológica, por la posibilidad de los efectos terapéuticos de las plantas.¹

Nuestro país es muy rico, por su gran diversidad de flora y fauna, además posee una cultura muy antigua con respecto al uso de las plantas medicinales, gracias a esto se siguen encontrando más especies botánicas. Así como la retama (*Spartium junceum* L.) es una planta arbustiva, que se cultiva como planta ornamental, naturalizada en márgenes de torrentes y carreteras, en las riberas de los ríos por sus flores vistosas, como combustible y como planta medicinal de múltiples cualidades terapéuticas, en donde se emplean las flores, semillas, corteza del tallo. Por lo tanto el presente trabajo, se orienta a la evaluación experimental de las propiedades diuréticas de los flavonoides aislados de las flores de esta planta.²

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos, que se distribuyen en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy diversas familias. Desempeñan un papel importante en la fisiología vegetal, dado que responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Los flavonoides son compuestos que se encuentran en diferentes órganos vegetales tales como fruto, hojas, flores y cortezas, representando uno de los más importantes grupos con actividad farmacológica y posee una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos. Muchas propiedades son atribuidas a los flavonoides: antimicrobiana, antivírica, diurética, espasmolítico, cicatrizante.³

En la actualidad el uso de los diuréticos representa una excelente alternativa como terapia inicial de las enfermedades renales y la hipertensión arterial.⁴ En situaciones de enfermedades edematosas y también en alteraciones de la presión arterial se indica como una forma de terapia el uso de diuréticos para disminuir la volemia. En nuestro medio de acuerdo al nivel sociocultural y económico muchas veces no es posible el uso de medicamentos y existe un gran sector de nuestra comunidad que accede al uso de la llamada medicina tradicional.⁵

Los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal de agua y electrolitos, a través de su acción sobre el transporte iónico en la nefrona. Su principal objetivo es lograr un balance negativo de agua, sin embargo, no actúan directamente sobre el agua, sino a través del sodio (diuréticos natriuréticos) o de la osmolaridad (diuréticos osmóticos).⁴

En la práctica médica existe un amplio arsenal terapéutico de fármacos sintéticos que son empleados para tratar estas afecciones, que se

han transmitido de generación en generación mediante un enfoque etnobotánico.⁴ es así que a los profesionales de la salud y más aun a los químicos farmacéuticos nos toca el deber de contribuir con nuestros conocimientos científicos y hacer extensivo las propiedades de nuestras especies que pueden abarcar el mercado interno y el mercado externo la posibilidad de industrialización de nuestros recursos naturales, terapéuticos, es una línea promisoría que tendría sustento siempre y cuando corroboremos su eficacia.⁶ los flavonoides han demostrado tener una gran actividad biológica, principalmente como diuréticos, por lo tanto se plantearon los siguientes objetivos.

- Evaluar la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama".
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en las flores de *Spartium junceum* L. "retama".
- Determinar la dosis diurética más eficaz de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama".

MATERIALES Y METODOS

UBICACIÓN

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología en el área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la salud de Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, ubicado en la ciudad de Ayacucho a 2700 m.s.n.m. durante los meses de febrero a abril 2016.

MATERIALES

Población

Flavonoides presentes en las flores de *Spartium junceum* L. "retama" procedentes del distrito de Vischongo y provincia de Vilcashuamán del departamento de Ayacucho.

Muestra

8 gramos de flavonoides aislados de las flores secas de *Spartium junceum* L. "retama".

Material biológico

En el estudio realizado se utilizaron 25 cobayos machos de 400-600 gramos de peso que se adquirió de Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de las mismas edades, criados y alimentados en las mismas condiciones, y fueron divididos en 5 grupos.

DISEÑO METODOLÓGICO

Preparación de la muestra

Se recolectaron y seleccionaron las flores de *Spartium junceum* L. "retama", se secaron por un mes a temperatura ambiente, con una buena ventilación, bajo sombra, cambiando el soporte a diario y removiendo cuidadosamente para evitar su descomposición. Concluido el proceso de secado se tomó 400 g de flores secas se sometió a molienda con un mortero de porcelana hasta obtener un polvo ligeramente fino y se maceró con 2 litros de etanol al 80 % por una semana, luego se procedió a filtrar y evaporar a sequedad en un evaporador rotatorio BUCHI 300, obteniéndose 106 g de extracto hidroalcohólico.

Pruebas de identificación cualitativa de metabolitos secundarios

Del extracto hidroalcohólico obtenido se utilizó para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en las flores del *Spartium junceum* L. "retama", siguiendo el método de Miranda y Cuellar.⁷

Técnica de extracción de flavonoides de las flores de *Spartium junceum* L. "retama"

El extracto seco fue suspendido en agua destilada, luego desengrasado con éter de petróleo y extraída sucesivamente con cloroformo, acetato de etilo. Los flavonoides se concentraron en la fracción de acetato de etilo, donde se obtuvo 8g de flavonoides, el mismo que se evidenció con la prueba de Shinoda.⁸

Reacción de Shinoda: la fracción de acetato e etilo se separó una mínima cantidad a un tubo de ensayo en donde se agregó un pequeño trozo de cinta de Mg, seguido por gotas de HCl concentrado; en donde se observó una coloración de rojo cerezo.⁹

Cromatografía en capa fina (CCF)

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: placa cromatográfica 20x20 conteniendo silicagel G 254 (Merk)
- Fase móvil: Butanol: Ácido acético: agua (4:1:5)
- Volumen de inyección: 20 µl
- Revelador: Luz ultravioleta, cloruro ferrico

La fracción de acetato de etilo se disolvió en 1ml de metanol y mediante un capilar de vidrio, se aplicó en la parte inferior de la placa cromatográfica previamente activada (fase estacionaria), se colocó la placa de CCF en la cámara teniendo cuidado que el solvente butanol: ácido acético: agua (4:1:5) no sobrepase a la muestra aplicada y dejándose que el líquido ascienda por capilaridad. Posteriormente se procedió a sacar la placa cromatográfica teniendo en cuenta que el solvente llegue hasta los 2 cm de la parte superior de la placa, se dejó secar la placa de CCF al aire libre y se observó en la luz UV, finalmente se reveló con cloruro férrico al 1%. Por otra parte la siembra de la fracción de acetato de etilo se realizó en bandas con el propósito de aislar los flavonoides, estas bandas fueron recuperadas, disueltas en metanol y filtrado para las pruebas espectrales, los cuales se evidencio en la luz ultravioleta.

Espectro UV: El filtrado de las bandas fueron leídas en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm.⁸

Evaluación de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama"

Se realizó utilizando el método descrito por Naik, *et al.* El método consiste en la administración de un volumen conocido de solución salina y después medir la cantidad del líquido eliminado por efecto diurético de la sustancia ensayada, utilizando como patrón la furosemida.¹⁰

A partir de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", se preparó una solución patrón a 0,2%; a partir de ello se administró a diferentes dosis a los cobayos.

Procedimiento experimental

En este ensayo se utilizó cobayos del mismo sexo y edad con un peso comprendido entre 400-600 gramos.

Los animales de experimentación fueron distribuidas al azar en 5 grupos con 5 animales por grupo.

- Los animales fueron dejados en ayunas de 10 a 12 horas antes de la prueba sin privarlos de agua.
- Se administró por vía oral una solución de NaCl al 9 % (solución fisiológica), mediante una sonda nasogástrica, en una dosis de 50

ml/kg de peso, y se colocó a una jaula de diuresis.

- Después de 20 minutos de hidratación, se pesaron a los cobayos y se administró por vía oral las siguientes muestras y se les colocó a una jaula de diuresis en el siguiente orden

Grupo I: Control se administró Furosemida 20 mg/kg de peso corporal

Grupo II: Blanco se administró (solución de NaCl al 9 %) 50 ml/kg

Grupo III: Flavonoides aislados a una concentración de 2,5 mg/kg

Grupo IV: Flavonoides aislados a una concentración de 5 mg/kg

Grupo V: Flavonoides aislados a una concentración de 10 mg/kg

- Se recolectó la orina cada hora, hasta la sexta hora en todo los casos en una probeta graduada para medir el volumen de orina eliminado, lo que permitió determinar la actividad diurética y la eficacia diurética con relación a la furosemida tomada como patrón.
- Se expresó la excreción volumétrica urinaria (EVU) en porcentaje y la actividad diurética utilizando la siguiente formulas.^{37,38}

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

Actividad diurética

$$= \frac{\text{Volumen de orina excretado (Grupo tratado)}}{\text{Volumen de orina excretado (Grupo positivo)}}$$

Escala: alta: AD \geq 0,90, moderada: AD (0,89 - 0,70), baja: AD (0,69 - 0,50), nula: AD < 0,50

- Se graficó el área bajo la curva de la excreción urinaria

ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis estadístico se realizó los gráficos utilizando histogramas y curvas de respuesta en función al tiempo, también se realizó el análisis de varianza de ANOVA y las pruebas de Dunnett, Duncan, mediante el paquete estadístico SPSS con un nivel de 95 % de confianza, los resultados se expresaron en tablas y figuras.

RESULTADOS

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las flores de *Spartium junceum* L. "retama". Ayacucho - 2016.

Metabolitos Secundarios	Observación	Resultados
Alcaloides	Precipitado	
• Ensayo de Dragendorff	anaranjado	+++
• Ensayo de Mayer	Opalecencia	+ - -
• Ensayo de Wagner	Turvidez defenida	++-
Triterpenos y esteroides		
Ensayo de Lieberman-Buchard	Verde intenso	++-
Lactonas y cumarinas		
Ensayo de Baljet	Anaranjado tenue	+ - -
Flavonoides	Coloración	
Ensayo de Shinoda	rojo cerezo	+++
Fenoles y Taninos	Coloración	

Ensayo de FeCl₃ azul oscuro +++

Azúcares reductores

Ensayo Fehling Amarillento ---

Aminoácidos Coloración

Ensayo de Ninhidrina azul violáceo +++

Leyenda: (++) Abundante
 (++) Poco
 (+) Leve
 (---) Negativo

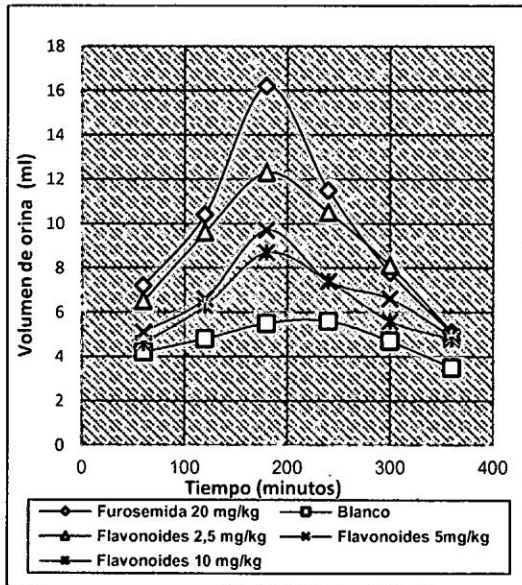


Figura 4. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", expresado como la variación de volumen de orina en función al tiempo. Ayacucho - 2016.

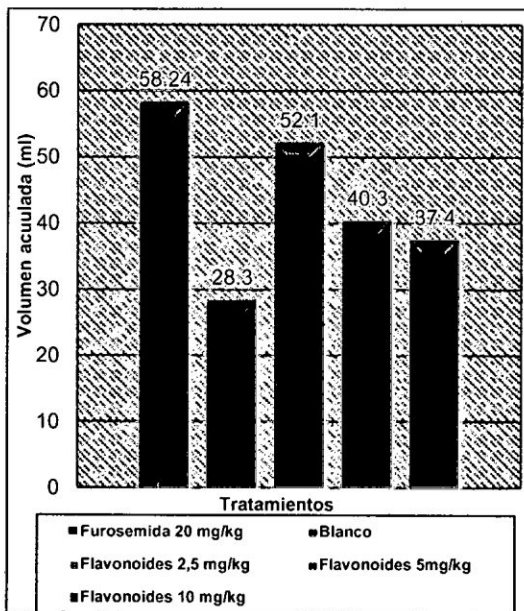


Figura 5. Actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", expresado como volumen acumulado de

la orina excretada en función a los tratamientos. Ayacucho - 2016.

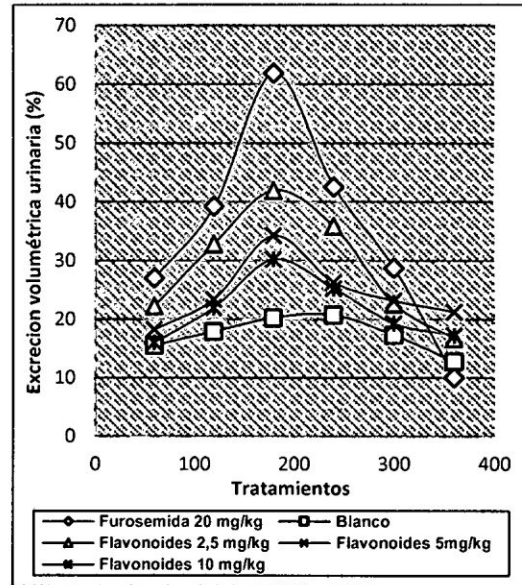


Figura 6. Excreción volumétrica urinaria expresada en porcentaje de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama". Ayacucho - 2016.

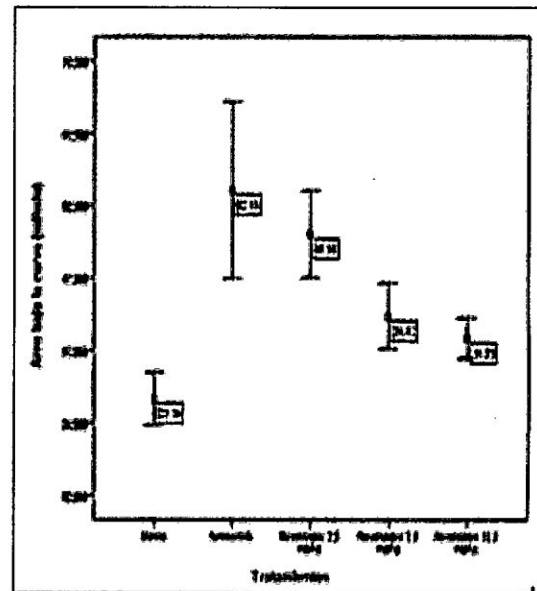


Figura 7. Area bajo la curva de (ABC) de la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", en función a los tratamientos. Ayacucho - 2016.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determinó la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", donde se empleó diferentes solventes para aislar los flavonoides así como el etanol, éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo. La extracción de flavonoides, está ampliamente reportado.^{8,11} para la separación de otros

metabolitos secundarios se realizó mediante un proceso de extracción sucesiva de líquido a líquido utilizando un embudo de separación, se utilizó diferentes solventes como el éter de petróleo, cloroformo y acetato de etilo; ya que el éter de petróleo elimina las grasas, ceras, pigmento, otros metabolitos, la segunda extracción con cloroformo tiene la finalidad de separar los terpenos y sesquiterpenos, finalmente se utilizó el acetato de etilo con la finalidad de aislar los compuestos fenólicos específicamente los flavonoides, obteniéndose aproximadamente 8 g de flavonoides totales, en los diferentes extractos mediante la prueba de Shinoda, observándose en la fase etérea una coloración amarillenta y en la fracción de acetato de etilo color rojo cerezo, además en el estudio fitoquímico se encontró diversos metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico.

En la tabla 1 y anexo 4, se plasma el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico, y las fracciones aisladas es desarrollado según la literatura de Lock de Ugaz.⁹ y Miranda.⁷ encontrándose flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos y aminoácidos, en poca cantidad triterpenos y esteroides, así mismo se encontró mínima cantidad a las lactonas y cumarinas, pero no se observaron azúcares reductores. Los metabolitos secundarios presentes se encuentran en gran cantidad, esto debido a que el extracto hidroalcohólico arrastra metabolitos secundarios mediana y fuertemente polares.⁷ en el ensayo cromatográfico preliminar se confirmó la presencia de los flavonoides observándose manchas con luz ultravioleta (CAMAG) 210 nm, revelándose con FeCl₃ al 1%, adjuntado en el anexo, donde se observa la presencia de flavonoides libres y metoxilados de manchas de color marrón oscuras y marrón tenue respectivamente. Las manchas fluorescentes de flavonoides fueron amarillo, lila, marrón, verde, celeste, anaranjado. La detección de los flavonoides por cromatografía de papel y capa delgada son visualizados con luz ultravioleta se presentan como manchas fluorescentes azules, rosadas, naranjas, púrpuras y otras; las cuales se intensifican o cambian de fluorescencia luego de su exposición a vapores de amoníaco.⁹ lo cual se pudo apreciarse en la parte experimental visualizándose en el anexo 7. Los flavonoides resultantes en la fracción de acetato de etilo fueron aislados y purificados mediante cromatografía en capa fina a escala preparativa, las manchas caracterizadas fueron recuperados del gel de sílice con metanol, lográndose aislar 6 fracciones, por la concentración mínima de los flavonoides no se encuentran curvas bien definidas. Los espectros de los flavonoides son determinados usualmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos de 240-285 nm (Banda II, B II) y 300 - 550nm (Banda I, B I). Podría indicarse como característica que en dihidroflavonas, hidroxiflavonoles e isoflavonas la banda I es de baja intensidad (más baja que la banda II).⁹ en la cromatografía revelada se encontró 6 manchas fluorescentes las observándose en espectro ultravioleta, la curva espectral primero fluorescencia amarilla a una longitud de onda (212 nm y 262 nm), segunda fluorescencia lila (205 nm y 352 nm), tercera fluorescencia marrón (207 y 261 nm, 352 nm), cuarta fluorescencia verde (205 nm y 269 nm),

quinta fluorescencia celeste (219 y 261 nm), fluorescencia anaranjado (205 nm y 265 nm), mostradas en el (anexo 9 y 10). En ambos casos se trata de los flavonoides por la semejanza en algunas características como la coloración en luz UV (C/S NH₃) y según la visualización de espectros y la literatura de Lock de Ugaz.⁹ además los flavonas o flavonoles, exhiben dos bandas de absorción en la región UV visible, banda I representa el anillo A de estos compuestos y aparece en un rango de 320 nm - 385 nm y la banda II que corresponde al anillo B entre los 250 y 285 nm.¹² estudios previos demostrarán la presencia de flavonoides en las flores de *Spartium Junceum* "retama"; se han aislado cinco flavonoides con estructura de catecol en el anillo B a partir del extracto butanólico, tales como: isoquercitrina (quercetina 3 β -glucósido); luteolina 4' β -glucósido; quercetina 3, 4'-diglucósido; azaleatina 3 β -glucósido (quercetina 5-metiléter 3 β -glucósido) y la quercetina 4' β -glucósido.¹³ lo cual se evidenció cualitativamente, luego de la extracción con los diferentes reactivos, con la prueba de Shinoda y la caracterización cromatográfica y espectro UV, se trata de la presencia de isoflavonas, flavonas, Flavonoles como la quercetina en *Spartium Junceum* L. "retama" al dar positivo debido a la presencia del núcleo γ -benzopirona (flavonoides).¹⁴

La figura 4, muestra el volumen de orina excretado en función del tiempo, la furosemida, expone la mayor actividad por ser un fármaco cuyo perfil diurético está muy bien definido, siendo el resultado 16,2 ml, como consecuencia de su acción perturbadora sobre el transporte iónico a lo largo de la nefrona, el mismo que es evidenciado gráficamente por la curva de mayor tamaño que describe de forma ascendente hasta un volumen máximo excretado (pico máximo) ocurrido a la tercera hora. La furosemida pertenece al tipo de diuréticos de techo alto que actúan mediante la inhibición del cotransporte de Na⁺/K⁺/ 2Cl de la membrana luminal en la rama ascendente del asa de Henle y tienen mayor eficacia en la movilización de Na y Cl⁻ del cuerpo.¹⁵ también las sustancias de ensayo, flavonoides a 2,5 mg/kg ejerce aparentemente una actividad diurética similar a la furosemida, con un volumen máximo de excreción urinaria 12,3 ml a la tercera hora. Los flavonoides a 5 y 10 mg/kg, en tanto describieron una curva de volumen de excreción urinaria menos pronunciada, aunque con volúmenes máximos de excreción también a la tercera hora (9,7 ml y 8,7 ml). El grupo tratado con (NaCl 0.9 %), no mostró variación importante en el volumen de excreción urinaria. Un aspecto importante demostrado en esta investigación es el comportamiento de los flavonoides similar en el tiempo de excreción al diurético de referencia donde se observó un pico máximo de excreción a la tercera hora (180 min). De igual forma se reporta en la literatura que la furosemida tiene una acción relativamente breve en el organismo, aproximadamente de 4 a 6 horas.¹⁶ esto también se hace evidente cuando a la sexta hora la diuresis disminuyó considerablemente en todos los grupos, prácticamente restableciéndose el balance hídrico, a medida que se incrementaron los niveles de dosis de flavonoides, el volumen de orina eliminado fue cada vez inferior, resultado que nos habla a favor de una posible respuesta que no depende de la dosis. La administración de

una carga hidrosalina (solución fisiológica) en este ensayo, uniformiza y mejora la respuesta de la sustancia probada; ya que el exceso de agua y electrolitos simula una situación de edema, lo que justifica el empleo de este modelo experimental.⁵ Con relación a los flavonoides la literatura refiere que los flavonoides poseen efectos diuréticos, como es el caso del flavonoide crisina, al que se le atribuye aumento significativo del flujo de orina, filtración glomerular y excreción de Na⁺ y K⁺. Varios estudios han demostrado con toda claridad que isoflavonoides como genisteína y daidzeína producen inhibición del cotransporte de Na⁺-K⁺-2Cl⁻ y aumentan la natriuresis y kaluresis. Recién se ha reportado que 7- metoxiflavonoides se ligaron de modo activo al receptor de adenosina A₁, produjeron antagonismo y consecuentemente diuresis y excreción de sodio.⁴

La figura 5, muestra la actividad diurética de los flavonoides aislados de las flores de *Spartium junceum* L. "retama", expresado como volumen acumulado de la orina excretada durante las seis horas, donde la furosemida 20 mg/kg fue mayor, con 58,24 ml seguido por flavonoides a dosis de 2,5 mg/kg de peso con 52,10 ml, que se asemeja a la furosemida, ya que presenta mayor efecto diurético a comparación de otras dosis, así como a la dosis de 5 mg/kg que fue de 40,3 ml y 10 mg/kg que fue de 37,4 ml. El volumen de orina acumulado en el presente trabajo fue mayor con respecto a los resultados obtenidos en la investigación realizada en el Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto" en Cuba, en la valuación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental de ratas, se obtuvo que a dosis de 200 mg/kg de peso y 400 mg/kg de peso el volumen de orina eliminado durante las 24 horas llegó a medir 30,12 ml y 34,12 ml, respectivamente que estas son las dosis que producen un mejor efecto diurético a comparación de otras dosis.⁴ en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el trabajo de investigación la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "Capuli" en *Cavia porcellus* "cobayos" a dosis de 100 mg/kg de peso obtuvo un volumen de 38,20 ml de orina que indica mayor actividad diurética.¹⁶ esta diferencia de resultados en el volumen de orina podría deberse, a la diferencia del tipo de extractos además se trabajó con los flavonoides aislados, así como factores propios del animal (estrés, peso, edad, alimentación).

La figura 6, resalta la excreción volumétrica urinaria se expresa como porcentaje a diferentes tiempos, calculado dividiendo el volumen de orina excretado entre el volumen de líquido administrado y multiplicado por 100, en donde se obtiene como resultado que la furosemida presenta porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU) máximo 61,87 %, a la tercera hora siendo mayor en comparación a los diferentes tratamientos, pero a dosis de 2,5 mg/kg de peso fue 41,90 % máximo a la tercera hora, lo cual indica que tiene una actividad diurética muy próxima al fármaco de referencia, a comparación de los estudios realizados en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R&p "qenoa" la (% EVU) fue 67,42 % a una dosis de 400 mg/kg de peso, ya que es la dosis que produce mayor actividad diurética.¹⁷ En el efecto diurético del extracto

hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) pers "kimsa kuchu", la excreción volumétrica urinaria (%EVU) fue de 60,67 % a una dosis de 200 mg/kg de peso, así mismo es la dosis que tiene un mejor efecto diurético.¹⁸ en ambos estudios trabajaron con el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos; los resultados se asemejan por el material biológico que son los cobayos y la metodología, pero la variación podría ser porque se trabajó con las diferentes partes de la planta así como (hojas, tallos, flores) y diferentes dosis la dosis, además algunos autores señalan en cuanto al mecanismo de acción diurético de los metabolitos se debe a los aceites esenciales, saponósidos, bases xantínicas y sales de potasio también podrían actuar a nivel glomerular más que en el túbulo, provocando un aumento de la circulación renal e incrementando así la tasa de filtración glomerular y la formación de orina primaria.¹⁹ en este caso al aislar los flavonoides se separa los aceites esenciales, saponósidos y otros componentes que también podrían estar involucrados en este mecanismo de la diuresis.

La figura 7, plasma la distribución de las medias de las áreas bajo la curva (ABC) de los tratamientos. El ABC es un parámetro farmacocinético que en biofarmacia representa la concentración de un fármaco.²⁰ en este caso no se trazan concentraciones de sustancias en orina, sin embargo se monitoriza el volumen de orina excretado por unidad de tiempo donde se puede observar curvas de diuresis por lo que este modelo es aplicable para fines de contraste y cálculo de eficacia, se puede observar que los flavonoides ejercen un efecto diurético respecto al grupo blanco, pero que no depende de la dosis. La furosemida, por haber provocado mayor diuresis posee la mayor área bajo la curva 52,18 ml/min, luego los flavonoides a 2,5 mg/kg fue 46,10 ml/min a dosis de 5 mg/ml fue 34,82 ml/min y a 10 mg/kg fue 31,73 ml/min. Luego de realizar las pruebas de comparaciones múltiples de Dunnett, anexo 13 de las áreas bajo la curva, se demostró que los flavonoides a dosis de 2,5 mg/kg son similares estadísticamente con la furosemida ($p > 0,05$). La prueba de Duncan anexo 14 nos muestra que son similares únicamente con las dosis de 5 y 10 mg/kg, lo que demuestra la similitud estadística del efecto diurético con la dosis de 2,5 mg/kg y la de furosemida. Drogas con flavonoides afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello integrado por el efecto vasopresor capilatropo que mejora la microcirculación a nivel de todo el organismo.²¹ la evaluación de la actividad diurética de varios flavonoides aislados de plantas, cuyo resultado son similar al comportamiento de las tiazidas, recientemente, se ha comprobado que los flavonoides contribuyen sustancialmente a la actividad diurética de la especie *Boldoa purpurascens* Cav, de la que aislaron y caracterizaron químicamente los flavonoides (4',5 - dihidroxi - 6,7 - metilendioxi-flavona - 3 - O - L - ramnopiranosil-(1,2) - L - arabinopiranosida y 4',5 - dihidroxi - 6,7 - metilendioxi-flavona - 3 - O - D - xilopiranosida) para los cuales se demostró actividad diurética *in vivo* en dos de estos compuestos.²²

La actividad diurética obtenida en el siguiente trabajo de investigación fue a dosis de 2,5mg/kg de peso de los flavonoides aislados de las flores

de *Spartium junceum* L. "retama", donde se obtuvo (A.D = 80 %), ya que presenta una actividad diurética mayor a otras dosis, los resultados obtenidos se asemejan a los estudios realizados en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Coaquira, en el estudio de, actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calciolaria engleriana* Kranzlin feddes pepert "wawillay" en *Cavia porcellus* "cobayos", fue de (A.D = 89,5 %) a una dosis de 350 mg/kg de peso.²³ Poma, en él estudió la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. "romero" en *Cavia porcellus* "cobayos", la actividad diurética fue de (A.D = 100 %) a dosis de 200 mg/kg de peso.²⁴ Ramos, en la evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "Lengua de perro", fue de (A.D = 50 %) a dosis de 200 mg/kg de peso.²⁵ Torres, en la actividad diurética del extracto de hojas y tallos de *Ortiga urens* L. "ortiga común", fue de (A.D = 89 %) a dosis de 300 mg/kg de peso.²⁶ Peres, en el efecto diurético del extracto hidroalcohólico en los tallos de *Bacharis genistelloides* (Lam) Pers "kimsa kuchu", fue de (A.D = 86,68 %) a una dosis de 200mg/kg de peso.¹⁸ Salazar en el estudio de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. en "Capuli" en *Cavia porcellus* "cobayos" a dosis de 100 mg/kg de peso fue (A.D = 76 %).¹⁶

La variación de la actividad diurética, se debió a que se trabajó con las diferentes partes de las plantas como es el caso de hojas, tallos, flores, ya que también el metabolito secundario varía en los diferentes especies de las plantas y como a factores propios de los animales (raza, peso, estrés de los animales), al tipo de extracto acuoso y hidroalcohólico, pero en los diferentes estudios se trabajó con el mismo material biológico y la misma metodología.

Los flavonoides aislados, son las que poseen la característica diurética, así como la isoflavonas, flavonas y flavonoles como la quercetina, ya que han demostrado tener la actividad diurética por la que se asemeja a la furosemida que es un diurético de alta eficacia a la dosis de 2,5 mg/kg de peso y hay una leve respuesta a dosis de 5 mg/kg de peso; al compararlos con el control y la fármaco de referencia. Siendo la actividad diurética (80 %) a dosis de 2,5 mg/kg de peso y es más eficaz. Cabe destacar que en el presente investigación se obtuvieron resultados de una relación inversa con la concentración de los flavonoides aislados; es decir a mayor dosis, disminuye la actividad diurética, ya que no se cumple el principio de dosis respuesta, esto podría deberse posiblemente a la saturación de los receptores que impiden un mejor efecto diurético a una mayor dosis, como también podría estar desencadenando mecanismos de supresión de la diuresis por otra vía, probablemente por la disminución del flujo sanguíneo regional o por vías osmótica o no osmótica, que son dos eventos que regulan la síntesis y liberación de vasopresina, una hormona antidiurética.²⁷

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pino S, Prieto S, Pérez M, Molina J. Género *Erythrina*: Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. Acta Farm. Bonaerense [Revista on-line]. 2004, octubre -

noviembre [acceso el 08 de agosto del 2015], 23 (2): 252 - 258 Disponible en:

http://www.litamipharm.org/trabajos/23/2/LAJOP_23_2_5_3_5CCQ1E589W.pdf

2. Huamani M, Ruiz A. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida Albicans* y *Aspergillus Niger* de 10 plantas medicinales de 3 Departamentos del Perú. [tesis on-line]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia Y Bioquímica E.A.P. de Farmacia y Bioquímica. Lima - Perú. 2005. Disponible en : http://cybertesis.UNMSM.edu.pe/bitstream/cybertesis/1278/1/Huamani_am.pdf
3. Saragoza F. I Congreso de Fitoterapia. Flavonoides y fitoterapia. Revista de fitoterapia. [Revista on-line]. 2002. abril-mayo. [Acceso el 25 de setiembre del 2015] 2(1): 21-32. Disponible en: http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF2_1_FLAVONOIDES.pdf
4. Martínez S, Jiménez M, Del Rio S, Pérez J, Maceira M, Morales Z, et al. Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas. Rev. Cubana de Plantas Medicinales. [Revista on-line]. 2012; octubre-diciembre. [Acceso 18 de octubre 2015] 17(4): 431- 438. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962012000400014&script=sci_arttext
5. Castillo S, Castillo E, Reyes C. Efecto diurético de *Phyllanthus niruri* "chanca piedra" y niveles de excreción de sodio en *Rattus srattusvar. Albinus*. UCV Scientia. [Revista en línea]. 2011; enero - mayo. [Consultado 22 de Agosto 2015]; 3(1):122-127. Disponible en: <http://revistas.concytec.gob.pe/pdf/scientia/v3n1/a02v3n1.pdf>
6. Vargas C. Estudio de la actividad cicatrizante y antiinflamatoria del extracto alcohólico de las hojas de *Senna reticulata* (Willd) Irwin & Barneby (Retama) [tesis on-line] Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica Escuela de Post-Grado. Lima - Perú 2007. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2585/1/Vargas_cc.pdf
7. Miranda M, Cuellar M. Métodos de análisis de drogas y extractos, Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba. 2000.
8. Aguilar E. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña". Fondo Editorial de la EFP de Farmacia y bioquímica UNSCH. 3(1), pag.1 - 5, Ayacucho - Perú. 2010.
9. Lock de Ugaz. Investigación fitoquímica. métodos en el estudio de productos naturales. 2^{da} ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. fondo editorial. 1994.
10. Cotillo P. "métodos farmacológicos en la investigación de los productos naturales". Jarmad. 1990.
11. Pariona Y. Actividad hepatoprotectora de los flavonoides aislados de las hojas *satureja brevicalyx* Epl "wayra muña" en las ratas Albinas. [tesis]. Universidad Nacional de san Cristobal de Huamanga Facultad de Ciencias Biológicas Escuela de Formación Profesional

- de Farmacia y Bioquímica Ayacucho - Perú. 2011.
12. Gutierrez Y, Miranda M, Teresian A, Barrio G. Analisis de flavonoides en una fracción butanólica obtenida de *Phyllanthus orbicularis* HBK. Revista cubana de farmacia. [Revista on - line]. 2010, abril - mayo 44(3); 367 - 373, Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v44n3/far11310.pdf>
 13. Yeşilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. Journal of ethnopharmacology. 2000; 73(3), 471- 478. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874100003275>
 14. Flórez J. Farmacología Humana. 3a edición. Barcelona: Editorial Masson; 1997.
 15. Ashokkumar D, Narayana TV, Vidyasagar, Mazumder UK, Gupta M. Exploration of diuretic potential and electrolyte excretion of *Tephrosia purpurea* (Fabaceae) in rats. Journal of dietary supplements. 2012; 9(1): 9-18. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/19390211.2011.630715>
 16. Salazar A. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. en "capuli" en *Cavia porcellus* "cobayo". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas escuela de Formación Profesional Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2012.
 17. Quintana C. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis racemosa* R&p "qenoa". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de formación profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2013.
 18. Peres T. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) pers "kimsa cuchu" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de ciencias biológicas. Escuela de formación profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú .2012.
 19. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Marrero E. Trabajo original Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. [Revista on - line] 2011; enero - febrero. [Acceso 10 de junio 2015]. 30 (3): 332 - 344. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v30n3/ibi04311.pdf>
 20. Cid CE. Introducción a la farmacocinética. Santiago: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas; 1982.
 21. Coloma H. Evaluación de la actividad diurética del jugo de caña agria (*costus spicatus*) en ratas (*Rattus norvegicus*). [Tesis virtual]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia Riobamba - Ecuador 2015. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/4539/1/56T00579%20UDCTFC.pdf>
 22. Pérez M, Morón R. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Revista latinoamericana de hipertensión. 2011; 6(2): 35 - 40. Disponible en: <http://biblat.unam.mx/revista/revista-latinoamericana-de-hipertension/articulo/consideraciones-farmacologicas-sobre-principios-activos-en-plantas-medicinales-con-actividad-diuretica>
 23. Coaquira B. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engleriana* Kranzlin Feddes Repert "wawillay" en *cavia porcellus* "Cobayo". [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2011.
 24. Poma H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinales* L. "romero" en *Cavia porcellus* "cobayo" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2012.
 25. Ramos G. Evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "Lengua de perro" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2011.
 26. Torres M. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Ortica urens* L. "ortiga común" [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad ciencias biológicas. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho - Perú. 2012.
 27. Tessler J, Errasti A, Rothlin R, Farmacología general. farmacodinamia. [Base de datos en línea], Perú - 2007. [Acceso el 10 de mayo del 2016]. Disponible en: <https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/03/farmacodinamia.pdf>