

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

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



**Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de  
cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum  
tuberosum* R.&P. "mashua" en ratas.**

**Ayacucho - 2012.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. YACHAPA BARRIENTOS, LIZ KARINA**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2013**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS  
RD. N. 106-13-UNSCH-FCB-D**

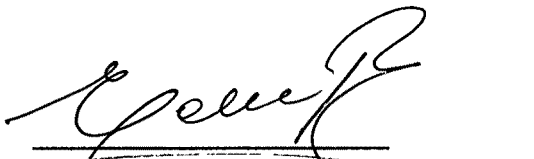
**Bach. Liz Karina Yachapa Barrientos**

En la ciudad de Ayacucho, a los nueve días del mes de agosto del año dos mil trece, en el Auditorio del Departamento Académico de Ciencias Biológicas de la UNSCH, siendo las cuatro de la tarde, los miembros del jurado calificador bajo la presidencia del Mg. José Manuel Diez Macavilca e integrado por los siguientes docentes: Mg. Enrique Aguilar Felices, Biga. Laura Aucasime Medina y Dr. Edwin C. Enciso Roca quien también actúa como secretario encargado para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. Ayacucho-2012. Presentada por la bachiller Liz Karina Yachapa Barrientos, quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutica.


Como primer acto el presidente del jurado calificador dio instrucciones a la sustentante para su exposición, el cual no debe ser mayor de cuarenta y cinco minutos. Culminada la exposición, el presidente solicitó participación de los miembros del jurado calificador, para realizar sus observaciones, preguntas o aclaraciones que crean por conveniente para realizar la calificación correspondiente. Los miembros del jurado calificador participaron en el siguiente orden: Dr. Edwin C. Enciso Roca, Biga. Laura Aucasime Medina, Mg. José M. Diez Macavilca y finalmente el Mg. Enrique Aguilar Felices como asesor. Culminada la participación de los miembros del jurado calificador, el presidente invitó a la sustentante y al público en general a abandonar el auditorio para que el jurado calificador pueda deliberar y realizar su calificación en privado, obteniéndose la siguiente calificación:

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RPTAA PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. JOSE M. DIEZ MACAVILCA	17	17	17
Dr. EDWIN C. ENCISO ROCA	17	17	17
Mg. ENRIQUE J. AGUILAR FELICES	17	17	17
Blga. LAURA AUCASIME MEDINA	17	17	17
		<b>PROMEDIO FINAL</b>	17

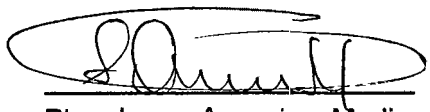
De la evaluación realizada la sustentante obtuvo la nota promedio de DIECISIETE (17) de la cual dan fé los miembros del jurado calificador estampado su firma al pie de la presente acta. Culminó el acto de sustentación siendo las cinco y cuarenta de la tarde.




Dr. Edwin C. Enciso Roca  
Miembro-Secretario (e)



Mg. Enrique J. Aguilar Felices  
Asesor



Blga. Laura Aucasime Medina  
Miembro



Mg. José M. Diez Macavilca  
Miembro-Présidente (e)

**DEDICATORIA**

A Dios.

A mi madre Eduarda.

A mi abuelita Cristina.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi *Alma mater* a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por forjar profesionales al servicio de la sociedad.

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

A mi asesor Mg. Q.F. Enrique Javier Aguilar Felices, por su invaluable asesoramiento y constante apoyo durante la realización en mi trabajo de investigación.

A los docentes, al Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo, Q.F. José Diez Macavilca, Q.F. Edwin C. Enciso Roca, a la Blga. Laura Aucasime Medina y al Ing. Alejandro Camasca Vargas.

Al Hospital Nacional Arzobispo Loayza en especial al Jefe del Departamento de Patología Clínica y Banco de Sangre por su apoyo incondicional en el dosaje de electrolitos.

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

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&P. "mashua"	5
2.2.1. Clasificación taxonómica	5
2.2.2. Descripción botánica	5
2.2.3. Antecedentes históricos	6
2.2.4. Ecotipos	7
2.2.5. Tubérculos	8
2.2.6. Composición química	8
2.2.7. Estudio toxicológico	9
2.2.8. Usos tradicionales	9
2.3. Farmacología renal	10
2.3.1. Fisiología renal	10
2.3.2. Diuréticos	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1. Lugar del trabajo de investigación	14
3.2. Población y muestra	14
3.3. Métodos para la recolección de datos	15
3.4. Análisis de datos	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química de la furosemida	11
Figura 2. Variación del volumen promedio de orina según tratamientos	20
Figura 3. Porcentaje de la excreción volumétrica urinaria (%EVU) según tratamientos	21
Figura 4. Porcentaje de la actividad diurética (%AD) según tratamientos	22
Figura 5. Concentración de sodio (mEq/l) según tratamientos	23
Figura 6. Concentración de potasio (mEq/l) según tratamientos	24
Figura 7. Concentración de cloro (mEq/l) según tratamientos	25
Figura 8. Concentración de calcio (mEq/l) según tratamientos	26

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de la clasificación taxonómica	39
Anexo 2. Certificado de identificación de ecotipos	40
Anexo 3. Ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&P. "mashua"	41
Anexo 4. Secado de ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&P. "mashua"	42
Anexo 5. Flujograma del procedimiento de extracción hidroalcohólico	43
Anexo 6. Pesado de las ratas	44
Anexo 7. Administración oral del extracto hidroalcohólico de ecotipos	45
Anexo 8. Medición del volumen de orina en ratas	46
Anexo 9. Muestras de orina	47
Anexo 10. Volúmenes de orina en ratas, según tratamientos	48
Anexo 11. Estadístico descriptivos de los tratamientos	49
Anexo 12. Análisis de varianza (ANOVA) de la variación del volumen promedio de orina (ml).	50
Anexo 13. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la variación del volumen promedio de orina	51
Anexo 14. Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria (%EVU)	52
Anexo 15. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria	53
Anexo 16. Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de actividad diurética (%AD)	54
Anexo 17. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la actividad diurética	55
Anexo 18. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón "mashua"	56
Anexo 19. Examen de electrolitos de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , y Ca <sup>++</sup> en orina de ratas	57
Anexo 20. Matriz de consistencia	58

## RESUMEN

Los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal del agua y electrolitos en casos de enfermedades cardiovasculares, insuficiencia renal y enfermedades hepáticas. El *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" tiene demostrada la actividad diurética, pero se desconoce cual de los ecotipos tiene mejor actividad diurética. La investigación fue de tipo experimental, cuyo objetivo fue determinar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de sus cuatro ecotipos en ratas, en los Laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre del 2012 a febrero del 2013. Los ecotipos fueron colectados en el centro poblado de Huancabamba de la provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac. La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik *et al.* en ratas, citado por Cotillo<sup>1</sup>; distribuidas en seis grupos de cinco animales cada uno. El primer grupo recibió solución salina al 0,9%, el segundo furosemida y el tercero, cuarto, quinto y sexto, 500 mg/kg del extracto hidroalcohólico de cada uno de los ecotipos. El efecto diurético se expresó como porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) y el contenido de electrolitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> y Ca<sup>++</sup> mediante el método de Electrodo Selectivos de Iones (ISE)<sup>2</sup>. El ecotipo de Sangre de Cristo I produjo 86,23%, Qello Qaspa 69,84%, Yana mashua 59,35% y con Sangre de Cristo II 22,33% de EVU respectivamente, comparando con 75,30% de EVU para la furosemida, se halló diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ). Los ecotipos de Sangre de Cristo I y Qello Qaspa fueron buenos natriuréticos y el Sangre de Cristo I fue un buen ahorrador de potasio. Se concluye que los ecotipos Sangre de Cristo I y Qello Qaspa tuvieron una mejor actividad diurética. Palabras clave: *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" ecotipos, efecto diurético.

## I. INTRODUCCIÓN

Los diuréticos son medicamentos que aumentan la velocidad de flujo urinario y la excreción de sodio, que son utilizados para ajustar el volumen y la composición de los flujos corporales, que son utilizados en una variedad de situaciones clínicas como enfermedades cardíacas congestivas, síndrome nefrótico, hipertensión y que también se utilizan en edemas en mujeres embarazadas. La mayoría de los fármacos diuréticos tienen efectos adversos como impotencia, fatiga y debilidad. Los diuréticos de origen natural incluyen a la cafeína presentes en el café, té y refrescos de cola; estas inhiben la reabsorción de sodio, los diuréticos al ser administrados son muy eficaz al eliminar sodio y potasio; que toda pérdida de potasio causa una búsqueda de diuréticos ahorradores de potasio; por lo tanto se busca un nuevo agente ~~diurético que~~ conserve la eficacia terapéutica.<sup>3</sup>

En la actualidad el uso de los diuréticos representa una excelente alternativa como terapia inicial de las enfermedades renales y de la hipertensión arterial. En la práctica médica existe un amplio arsenal terapéutico de fármacos sintéticos que son empleados para tratar estas afecciones, no obstante, la población utiliza con estos fines un número considerable de decocciones e infusiones de plantas medicinales, que se han transmitido de generación en generación mediante un

enfoque etnobotánico.<sup>4</sup> Los problemas de la salud y el difícil uso de los medicamentos sintéticos han llevado de nuevo a la humanidad a la búsqueda de la medicina tradicional; es así que el conocimiento de las plantas medicinales ha vuelto a tener un auge acelerado y cada día se ubica en un destacado lugar como una de las medicinas alternativas del futuro que garantice la eficacia, seguridad y de bajo costo, siempre y cuando sean usados en forma adecuada y asesorado por un personal especializado.

El Perú, es un país privilegiado al poseer una gran diversidad de flora, por el legado cultural de nuestros pueblos, muchas de las plantas pertenecientes a esta diversidad son utilizadas como un recurso medicinal natural para el tratamiento de las afecciones.<sup>5</sup> La mayoría de ellas no cuentan con estudios farmacológicos que validen las actividades terapéuticas atribuidas a las mismas, por lo que es importante realizar dichos estudios, dando a conocer su potencial terapéutico para que puedan ser utilizadas de forma adecuada y segura y de esta manera contribuir con la población que las utilice.<sup>6</sup>

Las raíces y tubérculos andinos constituyen un reservorio de variabilidad genética de gran diversidad para el mundo. Crecen en los Andes, a una altitud entre los 2400 a 4800 m.s.n.m. y por consiguiente tienen gran potencial para su introducción en otras áreas montañosas donde los cultivos del viejo mundo no se adaptan.<sup>7</sup>

En el presente trabajo se evaluó el efecto diurético de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" comparando con productos semejantes del mercado farmacéutico con la finalidad de superar la fase empírica del uso, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

**Objetivo general:**

- Determinar la variación del efecto diurético de cuatro ecotipos del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".

**Objetivos específicos:**

- Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".
- Realizar el dosaje de electrólitos en orina de ratas por efecto de extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo del *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

El estudio de plantas medicinales con actividad diurética es una práctica frecuente en las instituciones académicas y de investigación: Es así que existe un estudio previo de la actividad diurética de *Tropaeolum tuberosum* en ratas, demostrando que a la concentración de 500 mg/kg tuvo un mayor efecto, complementando con la determinación de su composición química que evidenció la presencia de flavonoides y catequina de manera abundante, seguido de los triterpenoides, esteroides, aminoácidos, compuestos fenólicos y azúcares reductores en concentraciones moderadas; asimismo, se realizó el dosaje de sodio y potasio.<sup>8</sup> Por otro lado, existen estudios de la actividad diurética en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga con otras especies como *Calceolaria engleriana* Kranzlin Feddes Repert,<sup>9</sup> *Physalis peruviana* L.,<sup>10</sup> *Krameria triandra*,<sup>11</sup> *Foeniculum vulgare*,<sup>12</sup> *Sambucus peruviana* H.B.K.,<sup>13</sup> *Taraxacum officinale*,<sup>14</sup> *Bidens pilosa*,<sup>15</sup> *Baccharis genistelloides* Lam. Pers,<sup>16</sup> en todos esos trabajos se utilizó la metodología de Naik *et al.* en cobayos y ratas citado por Cotillo.<sup>1</sup>

## **2.2. *Tropaeolum tuberosum* R.&P. “mashua”**

### **2.2.1. Clasificación taxonómica**

División	:	MAGNOLIOPHITA
Clase	:	MAGNOLIOPSIDA
Sub clase	:	ROSIDAE
Orden	:	GERANIALES
Familia	:	TROPAEOLACEAE
Género	:	<i>Tropaeolum</i>
Especie	:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&P.
N.V.	:	“mashua”

Fuente: Certificado expedido por el Jefe del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1).

### **2.2.2. Descripción botánica**

La mashua es una planta anual herbácea, su crecimiento inicialmente es erecto que luego varía hasta ser semipostrado, trepadora y ocasionalmente mediante los peciolos táctiles; las hojas son alternas, brillantes en el haz y más claras en el envés, son peltadas con tres a cinco lóbulos aun en la misma planta. Los tallos son aéreos, cilíndricos y son separados en los entrenudos, por lo general son muy ramificados de color púrpura violáceo oscura. Las flores de mashua son solitarias, zigomorfas que nacen en las axilas de las hojas y aparecen sobre el pedúnculos intensamente pigmentados.<sup>17</sup> El cáliz es de color rojo está formado por cinco sépalos unidos en su base; los tres superiores son orbiculares de 5 a 8 mm, mientras que los inferiores son espatulados de 10 a 12 mm de largo que a veces es doble. La corola presenta cinco pétalos de color amarillo oscuro anaranjados y provistos de una nervadura rojo oscuro, el ovario es trilobular

verde claro, el estilo es más corto y termina en un estigma trifido. Las anteras son pequeñas de 2 a 3 mm, de longitud aunque excepcionalmente hay flores con algunas anteras de 5 mm de longitud y el fruto es un esquizocarpo formado por tres mericarpos uniseminados indehiscentes, que se separan y caen individualmente en la madurez y que carecen endosperma.<sup>18</sup>

### **2.2.3. Antecedentes históricos**

Su origen geográfico parece haber sido las regiones montañosas de los Andes Centrales en los alrededores del Lago Titicaca, ha sido conocida desde tiempos inmemoriales, reportándose su presencia en diversos sitios arqueológicos. Se han encontrado pictogramas Pre-incas en la alfarería de Nazca, donde representaron a la papa, olluco, oca y mashua, las mismas que datan del año 1000 d.c. y esto muestra la gran importancia de estos tubérculos en el Perú antiguo, la primera evidencia arqueológica del mashua data de 650 - 1350 d.c. en Huachumachay, una cueva localizada en el Valle de Jauja, la fecha exacta de domesticación de la "mashua" no es conocida.<sup>19</sup>

Se les conoce con los nombres como año o isaño. Se cultiva en la actualidad desde Venezuela hasta Bolivia, aunque la mayor concentración está en las zonas agroecológicas como Suní y Puna bajo, en Perú y Bolivia, donde generalmente se mezclan las parcelas con otros tubérculos. Es el tubérculo con menor área cultivada y por ello es el que menos atención ha recibido. Su cultivo aún se mantiene debido a que es apreciado por ser tolerante a bajas temperaturas y al ataque de insectos y plagas. En la región de Ayacucho la mashua y la oca se cultivan en pequeñas escalas, siendo la superficie cultivada de la oca de 1850 ha. Teniendo un rendimiento de 2150 kg/ha y para la mashua de 780 ha, con un rendimiento de 2000 kg/ha.<sup>20</sup>

La mashua presenta innumerables nombres comunes que varían de acuerdo al país y al idioma, como por ejemplo, en quechua: allausu, añu, apiñu, apiñamama, cubio, hubios, mashua y mashwa, en aymara: apilla, issanu, isaño, kayacha y miswha, en Colombia: puel, en inglés: anu, perennial nasturtium y tuber nasturtium, en alemán: peruanische knollenkresse, en francés: capucine y tubereuse, en italiano: tropeolo del Perú.<sup>17</sup>

Referencias antiguas señalan que los cerdos alimentados con mashua incrementaban su flujo urinario, evidenciando un probable efecto diurético.<sup>17</sup>

Los emperadores incas alimentaban con mashua a sus ejércitos, para que se olvidaran de sus esposas, por la falta de apetito sexual.<sup>21</sup>

#### **2.2.4. Ecotipos**

Es una subpoblación genéticamente diferenciada, que está restringida a un hábitat específico, a un ambiente particular o un ecosistema definido, con unos límites de tolerancia a los factores ambientales. Es el producto de la adaptación de una especie a un ambiente particular; son ocasionalmente aislados por barreras geográficas y en ese caso se les denomina geo-ecotipos.<sup>22</sup>

En la región de la Sierra Central del Perú son muy comunes los clones con tubérculos amarillos y blancos, entre ellos se distingue la variedad local conocida como amarilla de Tarma. En Bolivia existe ecotipos preferidos por los campesinos, sobre todo por su bajo contenido en mucilagos lo que facilita el lavado y la preparación para el consumo.<sup>23</sup>

El Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria - INIEA considera más de 100 variedades de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", donde se conservan las semillas de los tubérculos andinos en el banco de germoplasma de Perú - Ecuador. La variabilidad genética se aplica a las características. Si no hay variación genética para una característica dentro de una población, el carácter no puede ser

modificado por selección, si un cambio en el ambiente o en las condiciones de vida afecta a esa característica, puede desaparecer toda la población. Esas diferencias tienen causas genéticas y ambientales.<sup>22</sup>

#### **2.2.5. Tubérculo**

Son plantas con dilataciones o abultamientos de tallos subterráneos, que presentan una envoltura con pequeños huecos, que albergan las yemas fértiles conocidos con el nombre de ojos; y en el interior contiene una masa feculenta blanca, amarilla y morada, etc., cuando las condiciones de humedad y calor son favorables, de estos ojos brotan los tallos y raíces de la nueva planta nutriéndose, como ejemplo tenemos a la papa, remolacha, mashua y oca, etc., que se carga de sustancias nutritivas de reserva y que el hombre lo aprovecha para su alimentación.<sup>24</sup>

#### **2.2.6. Composición química**

En materia seca; humedad 88,70%, ceniza 4,81%, proteínas 9,17%, fibra 5,86%, carbohidratos total 75,04%, Ca 0,006%, P 0,32%, Mg 0,11%, Na 0,044%, K 1,99%, Cu 9,00 ppm, Fe 42,00 ppm, almidón 46,92%, azúcar total 42,81%, azúcares reductores 35,83%, energía 440,0 kcal/100 g y vitamina C 77,37 mg/100 g de muestra seca.<sup>17</sup>

Las Tablas Peruanas de Composición de Alimentos señala la composición por 100 gramos de porción del *Tropaeolum tuberosum* R.&P. energía 50 kcal, agua 87,4 g, proteína 1,5 g, grasa 0,7 g, carbohidrato 9,8 g, fibra 0,9 g, ceniza 0,6 g, calcio 12 mg, fósforo 29 mg, hierro 1,0 mg, retinol 12 mg, tiamina 0,10 mg, riboflavina 0,12 mg y ácido ascórbico reducido 77,5 mg.<sup>25</sup>

El género *Tropaeolum* se caracteriza por tener compuestos azufrados llamados glucosinolatos, que son glucósidos azufrados de tipo aromático y alifático.<sup>26</sup>

### **2.2.7. Estudios toxicológicos**

Se evaluó la citotoxicidad en *Artemia salina* y la toxicidad aguda en ratones del extracto metanólico de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua". Según los resultados obtenidos, la mashua no es citotóxico, ni tóxico.<sup>27</sup>

### **2.2.8. Usos tradicionales**

Se utiliza en la medicina popular como: diurético, emético, purgante, antifrodisiaco y contra las enfermedades de la próstata. Se han reportado numerosos datos sobre su uso en nuestro país, de las hojas, tallos, raíz y frutos. Se preparan mates de las hojas y tallos tiernos como desinflamante, la planta entera como cicatrizante y diurética. Un trozo de la raíz machacada en agua fría es un excelente depurador de la sangre y se recomienda tomar como refresco para el mal de hígado, riñones, contra la diarrea, disentería y enfermedades digestivas. Las semillas demostraron ser una buena fuente de magnesio, lo cual resulta útil en casos de calambres y trastornos musculares. No obstante son muy pocos los estudios científicos llevados a cabo con la misma, destacando especialmente su actividad antiinflamatoria.<sup>28</sup>

Son conocidos por tener propiedades como: antibióticos, insecticidas, nematocidas y diuréticos que provocan el uso extenso de mashua en la medicina tradicional andina.<sup>19</sup>

El tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" es ampliamente utilizado como alimento y como recurso medicinal.<sup>29</sup> Tiene efectos beneficiosos en el hígado, riñones, alivia la próstata y los desórdenes urinarios.<sup>30</sup>

En Bolivia, la mashua se usa en el tratamiento de las dolencias de la próstata y se vende en cantidades pequeñas en las áreas urbanas.<sup>31</sup>

## **2.3. Farmacología renal**

### **2.3.1. Fisiopatología renal**

Los riñones mantienen el volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de los 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 compartimientos 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, secreción y metabolismo. Estas funciones también gobiernan la excreción de los fármacos. Las dos entidades fisiopatológicas fundamentales que requieren drogas de acción predominantemente renal están representadas por el edema, incluyendo el de las nefropatías y la diabetes insípida con su extraordinaria poliuria. Los fármacos que actúan predominantemente sobre el riñón se denominan renotrópicos y comprenden dos grupos: a) Los diuréticos, que modifican favorablemente el edema; b) los antidiuréticos, con acción beneficiosa en la diabetes insípida.<sup>32</sup>

### **2.3.2. Diuréticos**

Los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal de agua y electrolitos, modulan los sistemas de transporte iónico renal. La principal indicación terapéutica de estos fármacos, son en caso de insuficiencia cardíaca congestiva, la ascitis hepática, el síndrome nefrótico, etc. debido a una reabsorción anormal de NaCl en el riñón con la consiguiente retención de agua, se produce edema.<sup>33</sup> Los diuréticos también incrementan la tasa de excreción del Na<sup>+</sup> (natriuresis) y de un anión acompañante, por lo general de Cl<sup>-</sup>. En el organismo el NaCl es el principal determinante del volumen de líquido

extracelular, casi todas las aplicaciones clínicas de los diuréticos se dirigen a reducir dicho volumen, al disminuir el contenido corporal total de  $\text{NaCl}$ .<sup>34</sup>

### 2.3.3. Clasificación de los diuréticos

Se clasifican según el mecanismo de acción de la siguiente forma:

- **Diuréticos osmóticos:** Inhiben la reabsorción de agua y solutos aumenta la osmolaridad del líquido tubular, actúa en los túbulos proximales.
- **Diuréticos de asa:** Inhiben el cotransporte de  $\text{Na-K-Cl}$  en la membrana luminal, actúa en la rama ascendente gruesa del asa de Henle.
- **Diuréticos tiazídicos:** Inhiben el cotransporte de  $\text{Na-Cl}$  en la membrana luminal, su lugar de acción es la primera región de los túbulos distales.
- **Inhibidores competitivos de la aldosterona:** Inhiben la acción de la aldosterona en los receptores tubulares, reducen la reabsorción de  $\text{Na}^+$  y también la secreción de  $\text{K}^+$ .
- **Inhibidores de la anhidrasa carbónica:** Inhiben la secreción de  $\text{H}^+$  y la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$  que reduce la reabsorción de  $\text{Na}^+$ , actúa a nivel de los túbulos colectores.
- **Bloqueadores de los canales de sodio:** Bloquean el paso de  $\text{Na}^+$  a los canales de  $\text{Ca}^{++}$  de la membrana luminal, reducen la reabsorción de  $\text{Na}^+$  la secreción de  $\text{K}^+$ .<sup>35</sup>

### 2.3.4. Furosemida

Es un derivado del ácido antranílico, con una cadena lateral que contiene un anillo furano; su potencia y su eficacia diurética depende sus características.<sup>35</sup>

#### 2.3.4.1. Estructura química

Furosemida o ácido 4 – cloro – N – furfúril – 5 - sulfamoilantranílico; contiene una mitad sulfonamida, a continuación se presenta su estructura desarrollada.<sup>36</sup>

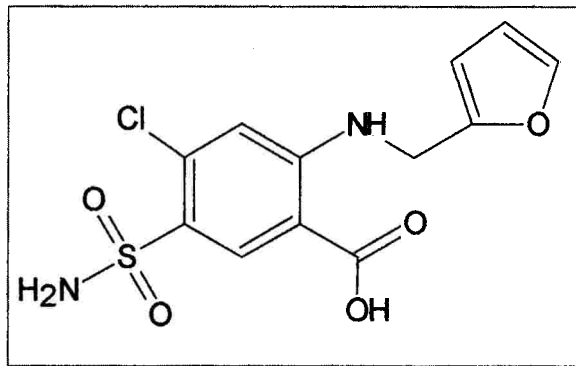


Figura 1. Estructura química de la furosemida

### 2.3.5. Mecanismo de acción

Los diuréticos de asa inhiben el cotransporte de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , en la rama ascendente gruesa del asa Henle. Al inhibir este cotransportador los diuréticos de asa reducen la reabsorción de  $\text{NaCl}$ . La unión al cotransportador es reversible, de alta afinidad y ocurre sobre la superficie luminal de la membrana.<sup>33</sup>

### 2.3.6. Farmacocinética

La acción diurética, resulta de la acción del fármaco en el túbulo renal, se absorbe bien por vía oral: la biodisponibilidad de la furosemida es del 50%, inicia su acción por vía oral a los 10-30 minutos y alcanzan su efecto máximo a los 20-40 minutos con una duración de 4-6 horas, por vía intravenosa el comienzo de la acción se aprecia en 2-5 minutos, pero esta ventaja es útil solo en circunstancias muy urgentes, como en el edema agudo del pulmón. Es dudoso que por vía intravenosa pueda conseguirse un efecto de mayor intensidad que el obtenido con dosis similares por vía oral, mientras que por vía intravenosa la ototoxicidad es más frecuente, por ello la vía oral es de elección. La eliminación de los diuréticos de asa es variable. Todos ellos son excretados parcialmente por la orina en forma activa y una parte también son metabolizados.<sup>37</sup>

#### 2.3.6.1. Reacciones adversas

La mayoría de las reacciones derivan de la propia acción diurética y su incidencia y dependencia de la intensidad del tratamiento como: hipopotasemia, hipovolemia y la

retracción del volumen extracelular, alteraciones del ritmo cardiaco y agravamiento de la toxicidad digitálica.<sup>37</sup>

#### **2.3.6.2. Indicaciones**

Se emplea en todas las formas de edema cardiaca, asociada con insuficiencia cardiaca congestiva, que no desaparecen con un tratamiento con digitálicos, ascitis, cirrosis hepática y enfermedades renales; incluso el síndrome nefrótico puede alcanzarse edema en embarazadas, después del segundo trimestre la hipertensión pre o moderada y con coadyuvante a crisis hipertensiva hipervolemia de cualquier patología.<sup>35</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar del trabajo de investigación**

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de setiembre del 2012 a febrero del 2013.

#### **3.2. Población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Conformado por cuatro ecotipo del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" ; Qello Qaspa (QQ), Yana Mashua (YM), Sangre de Cristo I (SC I) y Sangre de Cristo II (SCII), obtenidos en el centro poblado de Huancabamba de la provincia de Andahuaylas del departamento de Apurímac, ubicado a 3800 m.s.n.m.

##### **3.2.2. Muestra vegetal**

Un kg del tubérculo de cada ecotipo; una cantidad del tubérculo fue llevado al *Herbarium Humangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH para la identificación taxonomía (Anexo1). La otra parte fue llevada a la Escuela de Agronomía de la UNSCH para la identificación de los ecotipos del tubérculo (Anexo 2).

### **3.2.3. Unidad de experimentación**

Se utilizaron 30 ratas albinas machos, con peso promedio de 200 – 300 g que se adquirieron en el Centro Nacional de Producción de Biología del Instituto Nacional de Salud (INS) de la ciudad de Lima en buen estado de salud, con una semana de anticipación para ser adaptadas a las condiciones de laboratorio con alimento balanceado y agua.

### **3.3. Métodos para la recolección de datos**

#### **3.3.1. Recolección y selección de la muestra**

Las muestras del tubérculo de cada ecotipo fueron recolectadas en bolsas y llevadas a los Laboratorios del Área de Farmacia, donde se seleccionó y se lavó para eliminar los componentes de contaminación, para cortar en láminas delgadas.

#### **3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico**

Las muestras se secaron en la estufa a 40° por tres días. Luego se procedió a pulverizarlas, para macerar los 100 g de la muestra obtenida, se vació en un frasco de color ámbar con tres litros de alcohol a 80° por un período de siete días; previamente se agitó; después se filtró y se procedió a concentrar al vacío utilizando el rotavapor Buchi 3000 para la eliminación del disolvente.

#### **3.3.3. Tamizaje fitoquímico**

Una vez obtenido el extracto hidroalcohólico, se realizó las pruebas pertinentes para la identificación cualitativa de los principales metabolitos secundarios, directamente sobre el extracto de la planta con reacciones simples específicas de coloración y precipitación.<sup>38</sup>

#### **3.3.4. Preparación del estándar y de los extractos**

Se utilizó como estándar una tableta de 40 mg de furosemida (FUR) del Laboratorio de IQFARMA, se diluyó en 5 ml de cloruro de sodio al 0,9% y luego

se administró 0,65 ml a cada animal, todo estos cálculos se realizaron de acuerdo al peso del animal y también se calculó la dosis del extracto hidroalcohólico de los ecotipos a 500 mg/kg de peso. La concentración de la muestra hidroalcohólicos se preparó al 3% se diluyó en 100 ml de cloruro de sodio al 0,9% finalmente se administró 3,5 ml del extracto a las ratas.

### **3.3.5. Determinación de la actividad diurética**

Consistió en la administración de un volumen conocido de solución salina y después se midió la cantidad de líquido eliminado por efecto diurético de la sustancia ensayada, utilizando como patrón a la furosemida, para la determinación de la actividad diurética. Esta metodología se basó en el método de Naik *et al.* y citado por Cotillo.<sup>1</sup>

### **3.3.6. Procedimiento experimental**

La metodología utilizada se estableció en los siguientes pasos:

- Se privó de agua y alimentos a las ratas, 18 horas antes del inicio del ensayo experimental.
- Los animales se marcaron, pesaron y fueron distribuidos aleatoriamente en seis grupos de cinco animales cada grupo.
- Todos los animales fueron hidratados con solución salina fisiológica al 0,9% en la dosis de 50 ml/kg de peso, se le administró por vía oral mediante cánula intragástrica y después de 15 minutos de hidratación nuevamente se pesaron y se administró el fármaco de control y el extracto de cada uno de los ecotipos.
- Luego, los animales fueron colocados en las jaulas de diuresis y se midió el volumen de orina excretada en cada hora, se registró durante seis horas el volumen correspondiente.

- Con el volumen de orina colectada se calculó el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU), utilizando la siguiente fórmula:

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

- Asimismo, el porcentaje de actividad diurética (%AD) se calculó según la siguiente fórmula:

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

### 3.3.7. Diseño experimental

Los animales fueron distribuidos al azar en seis grupos de cinco animales cada uno, de acuerdo al siguiente esquema:

Grupo I Blanco (BL): Solución salina fisiología 50 ml/kg de peso.

Grupo II Estándar (FUR): Furosemida 20 mg/kg de peso.

Grupo III: Extracto hidroalcohólico a dosis de 500 mg/kg de peso del ecotipo QQ. (Qello Qaspa).

Grupo IV: Extracto hidroalcohólico a dosis 500 mg/kg de peso del ecotipo YM. (Yana Mashua).

Grupo V: Extracto hidroalcohólico a dosis 500 mg/kg de peso del ecotipo SC I. (Sangre de Cristo I).

Grupo VI: Extracto hidroalcohólico a dosis 500 mg/kg de peso del ecotipo SC II. (Sangre de Cristo II).

### 3.3.8. Método para la determinación de electrolitos

El contenido de electrolitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, y Cl<sup>-</sup> se determinó por el método Electroodos Selectivos de Iones (ISE).<sup>2</sup>

### **3.4. Análisis de datos**

Con los datos obtenidos se procedió a evaluar, mediante el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ) para determinar las diferencias significativas entre los grupos de tratamiento con los ecotipos y el grupo control; para lo cual se usó el programa SPSS versión 7,5. Se realizó comparaciones múltiples de Tukey de los valores de volumen de orina (ml), el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) y el porcentaje de actividad diurética (%AD) para determinar estadísticamente cual de los tratamientos posee el mismo comportamiento farmacológico.

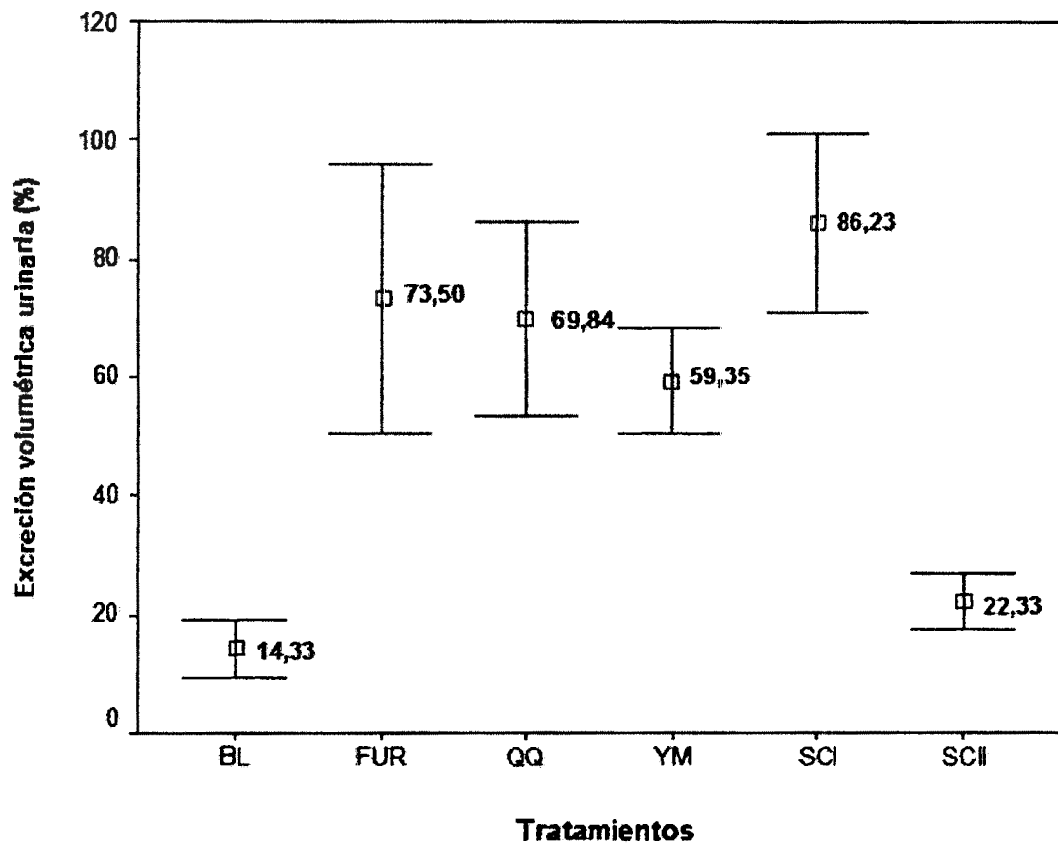


Figura 3. Porcentaje de la excreción volumétrica urinaria (%EVU) según tratamientos

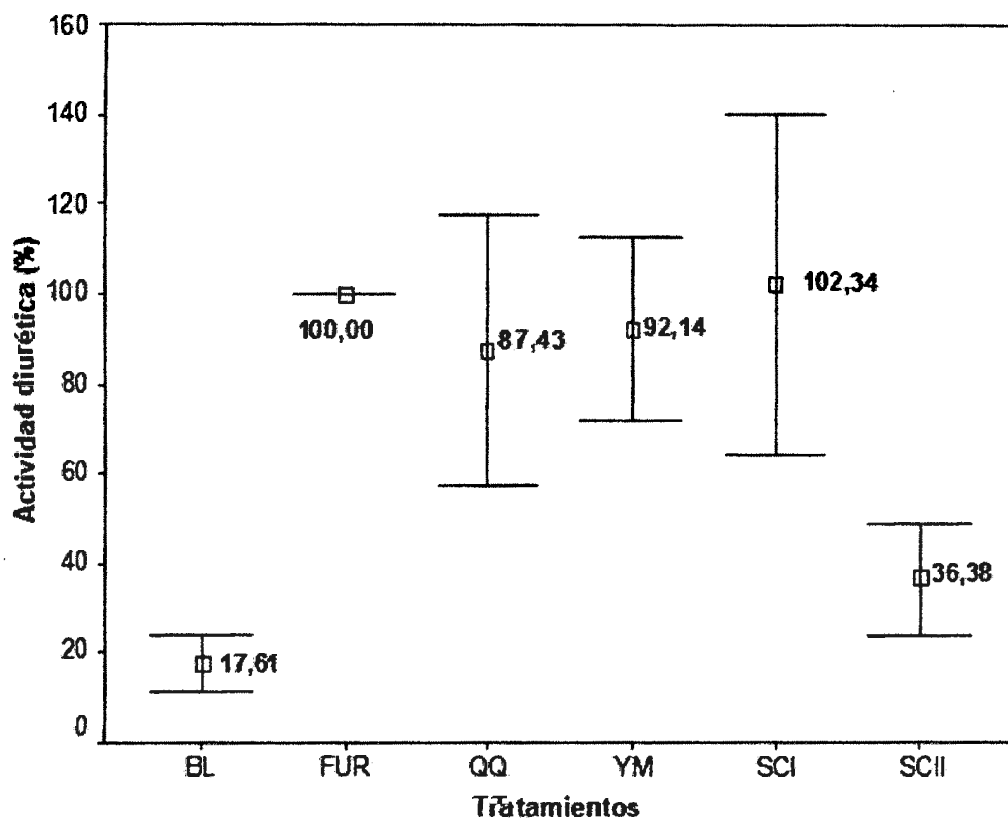


Figura 4. Porcentaje de la actividad diurética (%AD) según tratamientos

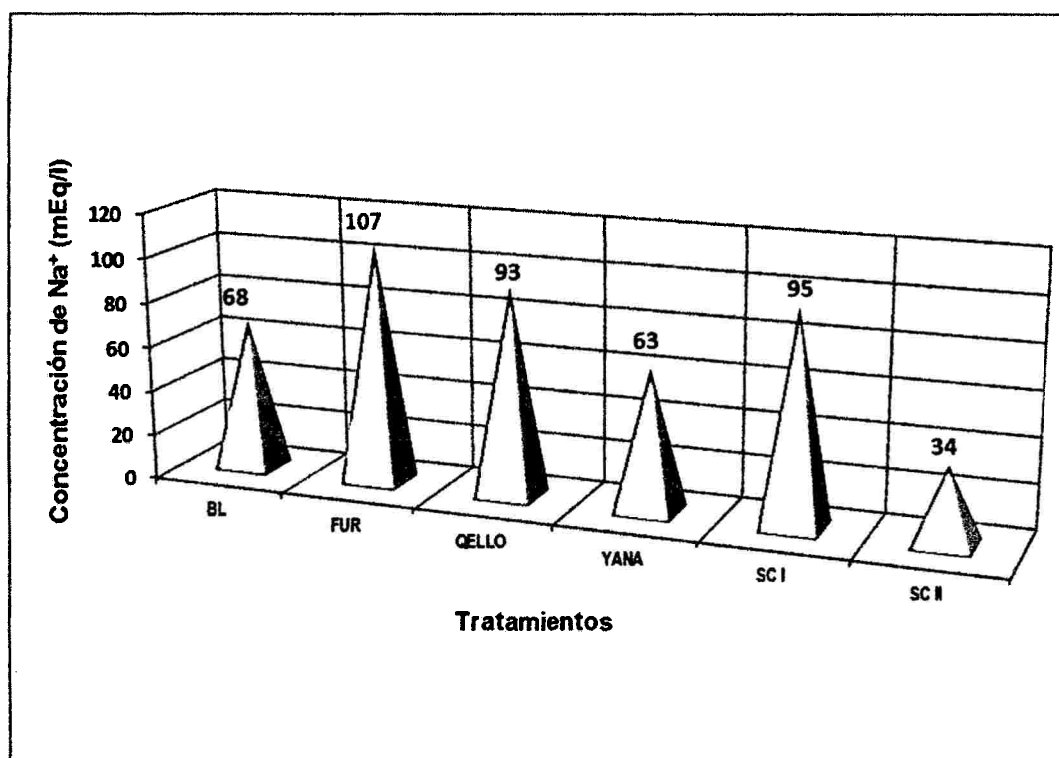


Figura 5. Concentración de sodio (mEq/l) según tratamientos

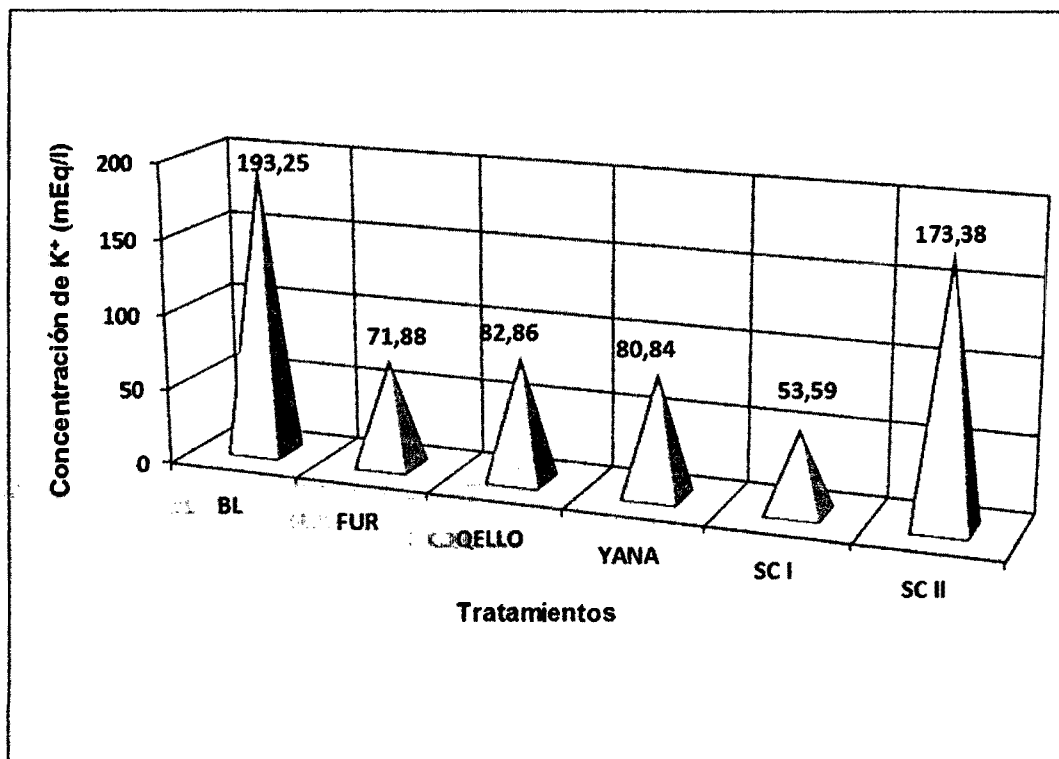


Figura 6. Concentración de potasio (mEq/l) según tratamientos

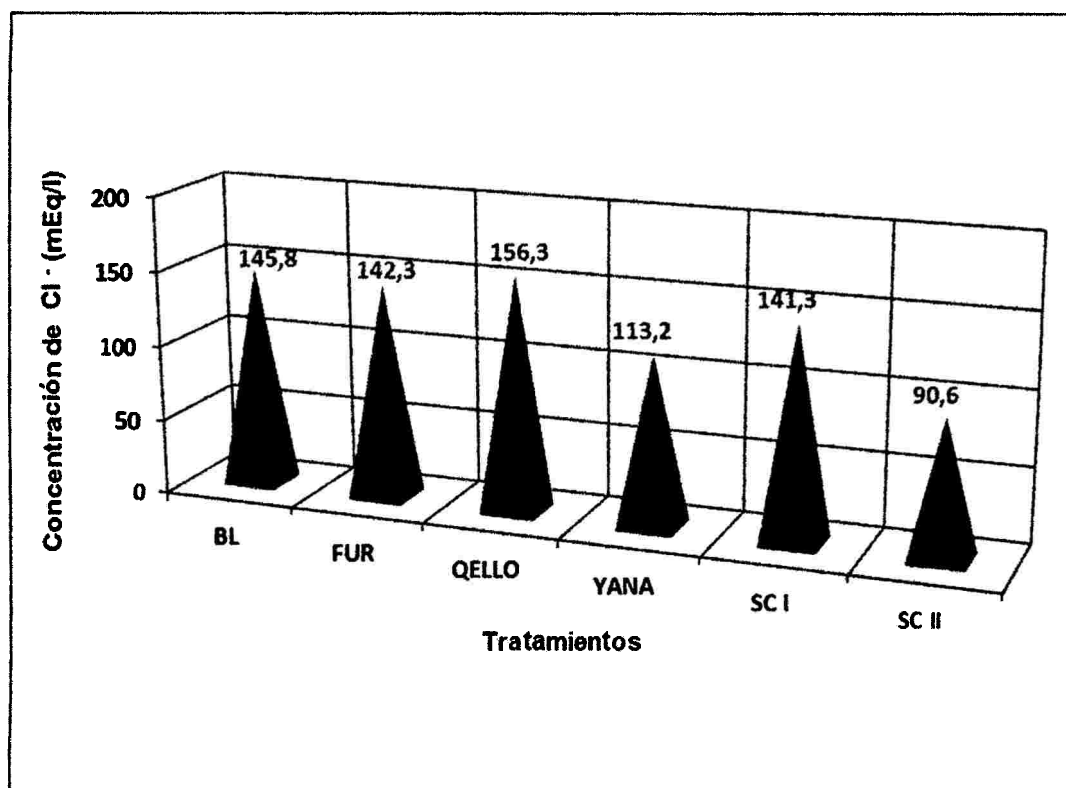


Figura 7. Concentración de cloruro (mEq/l) según tratamientos

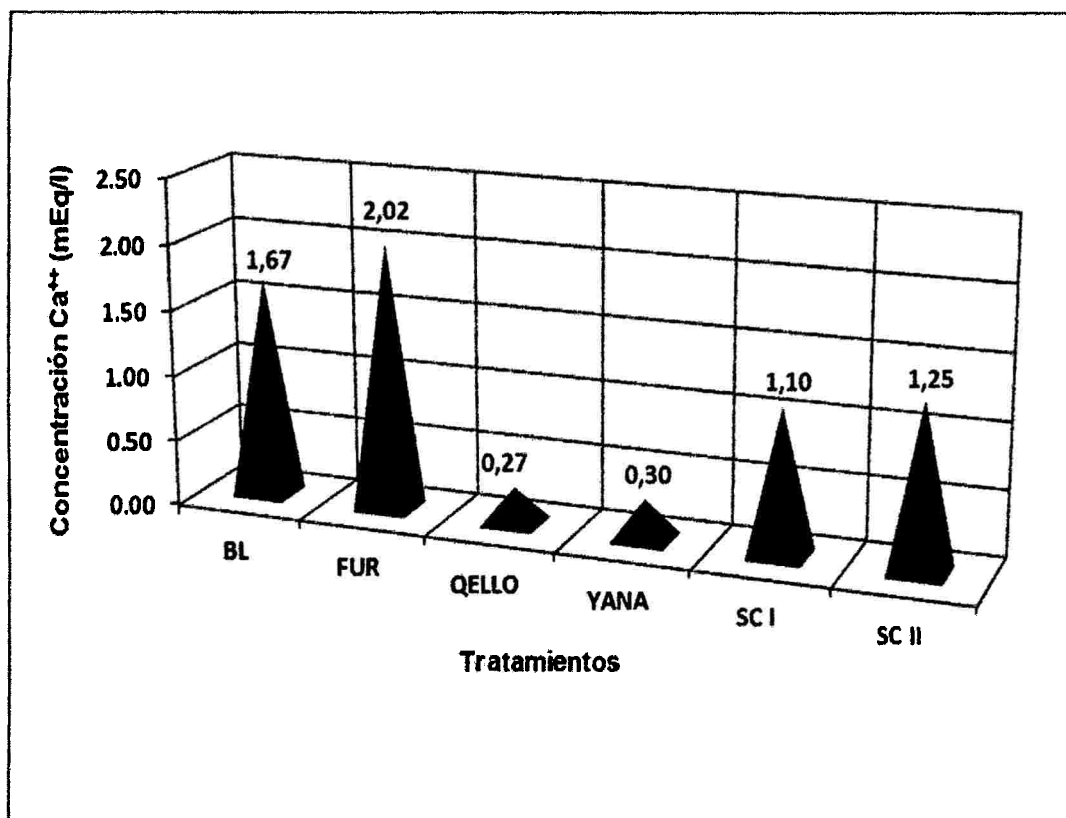


Figura 8. Concentración de calcio (mEq/l) según tratamientos

## V. DISCUSIÓN

Para evaluar el efecto diurético del *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" se utilizó la furosemida como fármaco estándar ya que es un fármaco diurético de máxima eficacia respectivamente. La diuresis se realizó por efecto del extracto hidroalcohólico de cada ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P "mashua" a concentración de 500 mg/kg de peso.

En la Figura 2, se observa la variación del volumen promedio de orina, en el que se aprecia los promedios de volúmenes de orina de 8,98 ml, 8,72 ml, 8,0 ml, y 7,47 ml para los tratamientos de furosemida, Sangre de Cristo I, Yana Mashua y Qello Qaspa respectivamente, en estos tres ecotipos el volumen promedio de orina excretada es mayor, mientras que el promedio del volumen de orina en la Sangre de Cristo II se obtuvo 3,12 ml y con el blanco se obtuvo 1,52 ml, en estos dos tratamientos el promedio volumen de orina excretada es menor.

Al efectuar el análisis de varianza del volumen promedio de orina, se halló que existen diferencias entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ) (Anexo 12). El análisis de comparación de medias de Tukey encontró que el ecotipo Sangre de Cristo II tienen menor volumen promedio de orina; mientras que el Qello Qaspa, Yana Mashua y Sangre de Cristo I se aproximan al fármaco estándar; sin embargo; el de mayor volumen promedio de orina se consiguió con el Sangre de Cristo I

(Anexo 13). En un estudio realizado de validación en farmacología de la actividad diurética en plantas por infusión acuosa, se reportó para la furosemida que ha eliminado un promedio de volumen de orina 10,67 ml,<sup>39</sup> el cual difiere en 1,69 ml de promedio de volumen de orina del valor reportado.

En la Figura 3, se muestra los resultados del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU), donde el ecotipo de Sangre de Cristo I obtuvo 86,23%, y el ecotipo Qello Qaspa obtuvo 69,84% de excreción volumétrica urinaria, con la furosemida se obtuvo un 73,50%. El análisis de varianza encontró diferencias estadísticas ( $P < 0,05$ ) entre los porcentajes de excreción volumétrica urinaria en los tratamientos (Anexo 14). Y al realizar la prueba de Tukey se encontró que los tratamientos tienen diferentes respuestas biológicas, en los tratamientos de Sangre de Cristo II se encontró 22,33% y tienen un menor porcentaje de excreción volumétrico urinario; para los tratamientos de Yana Mashua 59,35% y para el Qello Qaspa 69,84% tiene una mediana excreción volumétrica urinario; sin embargo; el Sangre de Cristo I se aproxima al fármaco estandar y por lo tanto se encontró mayor excreción volumétrica urinaria, observándose que el ecotipo de Sangre de Cristo I tiene el mayor porcentaje de excreción volumétrica urinaria que los demás ecotipos (Anexo 15). En las investigaciones realizadas, se reportaron los porcentajes de excreción volumétrica urinaria para la furosemida se obtuvo 103,58 % y para el extracto hidroalcohólico de la dosis de 500 mg/kg de peso se halló 48,69% de la excreción volumétrica urinaria; y en otro estudio de investigación se reportó para la furosemida 117,04% y para el extracto hidroalcohólico de la dosis 200 mg/kg se obtuvo 60,66% de excreción volumétrica urinaria; en ambos experimentos se utilizó ratas, lo cual supera a nuestros resultados, de excreción volumétrica urinaria.<sup>8-16</sup>

En la Figura 4, se muestra el porcentaje de actividad diurética (%AD) observándose que el extracto del ecotipo de Qello Qaspa se encontró 87,43% de actividad diurética, el ecotipo Yana Mashua obtuvo 92,14% de actividad diurética, el ecotipo Sangre de Cristo I obtuvo 102,33% y con la furosemida se obtuvo 100% de actividad diurético; donde el Sangre de Cristo I y la furosemida son ligeramente semejantes. Al realizar el análisis de varianza de la actividad diurética de los ecotipos del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum*, se demuestra que existen diferencias significativa entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ) (Anexos 16); y por lo tanto se realizó el análisis de comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey se encontró que los tratamientos tienen diferentes respuestas biológicas donde el ecotipo de Sangre de Cristo I tiene mayor efecto, seguidamente; del Yana Mashua y Qello Qaspa (Anexo 17). En los trabajos de investigación realizados del efecto diurético se reportaron la actividad diurética de la furosemida que obtuvo 99,40% y para el extracto hidroalcohólico de la dosis de 200 mg/kg se obtuvo 57,60% de actividad diurética que representaría la mitad de la actividad diurético de la furosemida<sup>16</sup>; los valores obtenidos en este trabajo son ligeramente inferiores a nuestro resultados obtenidos en el trabajo.

En la Figura 5, se observa los valores de electrólito de sodio ( $\text{Na}^+$ ) en mEq/l por efecto diurético de los tratamientos. En el presente ensayo se encontró 107 mEq/l de sodio excretado del grupo que recibió furosemida, 95 mEq/l sodio, excretado del grupo que recibió el ecotipo de Sangre de Cristo I y para el ecotipo de Qello Qaspa se encontró 93,0 mEq/l de sodio excretado; estos valores de electrólitos se aproximan a la furosemida. Este resultado se corrobora con lo anteriormente mencionado, que con el ecotipo de Sangre de Cristo I y Qello Qaspa se obtuvo mayor excreción de sodio. Asimismo según la literatura, la furosemida es un natriurético, es decir su mecanismo diurético es eliminar el

catión sodio ( $\text{Na}^+$ ). Según los investigadores que realizaron dosaje de sodio reportaron para la furosemida hasta 200 mEq/l de sodio excretado, valor superior al nuestro; y en otro trabajos de investigación se encontró para la furosemida valores hasta 198 mEq/l de sodio, porque ambos utilizaron cobayos en su investigación<sup>11-14</sup>; y en otro estudio se reportó hasta 158 mEq/l de sodio en la orina del grupo que recibió furosemida y en el grupo que recibió el extracto hidroalcohólico de “mashua” se encontró hasta 93 mEq/l de sodio, que representó un aproximadamente el 60% del contenido de este electrolito; y en otra investigación se encontró para la furosemida 189,59 mEq/l de sodio y para el extracto a la dosis de 100 mg/kg de dicha planta se reportó 68,78 mEq/l de sodio; estos dos últimos investigadores utilizaron ratas.<sup>8-16</sup> La diuresis produce no solamente la eliminación de agua sino también de electrolitos como el sodio y el potasio conjuntamente con el cloro, que es importante su cuantificación, un buen diurético es aquel que elimina la mayor cantidad de sodio y busca el ahorro de potasio.<sup>35</sup>

En la Figura 6, se observa los valores de electrolito del potasio ( $\text{K}^+$ ) en mEq/l por efecto diurético de los tratamientos. Para la furosemida se encontró 71,88 mEq/l de potasio excretado; mientras para el ecotipo de Sangre de Cristo I se obtuvo 53,59 mEq/l de potasio excretado es decir tuvo un comportamiento ligeramente inferior a la furosemida. Por lo tanto diremos que es posiblemente un ahorrador de potasio. En el siguiente trabajo de investigación se reportó para la furosemida 75 mEq/l de potasio en orina de ratas, y para el extracto hidroalcohólico la excreción de potasio se reportó 70 mEq/l.<sup>8</sup>

En la Figura 7, observamos los resultados del cloro ( $\text{Cl}^-$ ) en mEq/l, correspondiendo al ecotipo de Qello Qaspa que eliminó 156,3 mEq/l de cloro que fue la de mayor excreción con respecto a la furosemida y para esta se obtuvo

142,3 mEq/l de cloro. Finalmente respecto al anión cloruro que acompaña a los cationes de sodio y potasio, este fue eliminado en mayor concentración con el ecotipo de Qello Qaspa que obtuvo 156,3 mEq/l de cloro, ligeramente superior a la furosemida y con el ecotipo de Sangre de Cristo I se obtuvo 141,3 mEq/l de cloro. En las investigaciones realizadas por Perez encontró para la furosemida 191,54 mEq/l de cloro y el extracto que eliminó la mayor excreción de cloruro fue el de 100 mg/kg de peso que obtuvo 181,36 mEq/l.<sup>16</sup>

En la Figura 8, observamos los resultados de calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) en mEq/l, correspondiente a la furosemida, como el diurético que eliminó mayor cantidad de calcio 2,02 mEq/l, y el ecotipo que eliminó menor cantidad de calcio fue el Qello Qaspa con 0,27 mEq/l de calcio y seguidamente el ecotipo de Yana Mashua con 0,30 mEq/l de calcio. Según Perez encontró que la furosemida eliminó 1,85 mEq/l de calcio y con extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/Kg de peso y obtiene una eliminación de 0,62 mEq/l de calcio.<sup>16</sup> El calcio es un electrólito ligado a la función cardíaca participando en la contracción del músculo cardíaco, por lo tanto su eliminación mediante la diuresis podría influir en el funcionamiento cardíaco.<sup>35</sup>

El efecto diurético de los extractos vegetales se explicaría por un incremento tanto en la excreción de agua, excreción de sodio y potasio. La presencia de metabolitos secundarios en los extractos de las plantas serían compuestos polares, tales como flavonoides y principio tipo esteroides.<sup>40</sup>

Los flavonoides son sustancias que representan a uno de los más importantes grupos de compuestos con actividad farmacológica y poseen una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos; muchas de esas propiedades son atribuidas a los flavonoides como: antimicrobiana y diurética.<sup>41</sup>

La *Moringa oleifera* especie de la familia Moringaceae, contiene en sus hojas un glicosinolato. El p-ramnosilbencil- glucinolato. Entre las propiedades medicinales de esta especie es de ser un diurético.<sup>42</sup>

En el tamizaje fitoquímico que se realizaron se encontraron la presencia de flavonoides, aminoácidos, citoquinas, taninos y fenoles, alcaloides, saponinas, lactonas en buena cantidad en los ecotipos de Sangre Cristo I, Yana mashua y en el Qello Qaspa; como también se encontró resinas, cardenólidos azúcares reductores en poca cantidad en los ecotipos Yana Mashua y Sangre de Cristo I (Anexo 18). Los resultados son similares a los obtenidos de Mayhua.<sup>8</sup>

## VI CONCLUSIONES

1. Los extractos hidroalcohólicos de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua", presentan efecto diurético, estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).
2. El extracto que posee mayor efecto diurético entre los cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" es el de Sangre de Cristo I con 102,34% de excreción volumétrica urinaria; en comparación al ecotipo Yana Mashua con 92,14% excreción volumétrica urinaria y con el Qello Qaspa con 87,43% excreción volumétrica urinaria.
3. Los ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" que dieron mejores resultados en la excreción de sodio son: Sangre de Cristo I con 95 mEq/l y con el Qello Qaspa con 93 mEq/l. Mientras los mejores resultados en la excreción de potasio son: Sangre de Cristo I con 53,59 mEq/l y el Yana Mashua con 80,84 mEq/l. Finalmente los ecotipos que resultaron ser buenos natriuréticos son: Sangre de Cristo I, Qello Qaspa y el Yana Mashua.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios para explicar cuáles son las causas por las cuales el ecotipo Sangre de Cristo II, es menos diurético en relación a los demás ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".
2. Estudiar la actividad diurética de otros ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cotillo Zegarra P. Métodos Farmacológicos en la Investigación de los Productos Naturales: Editorial Jarmad. Lima – Perú; 1990.
2. Roche Diagnósticos GmbH. ISE Indirect. Electrodo Selectivo de Iones; método indirecto, para Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> Roche. España; 2007.
3. Vanamala U, Elumalai A, Chinna M, Shaik A. An Updated Review on Diuretic Plants. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives [revista en internet]. 2012 [Acceso 2 de mayo 2013]; 3(1):29-31. Disponible en: <http://www.ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/view/531> y An Updated Review on Diuretic Plants 2012 pdf.
4. Martínez S, Jiménez M, Del Rio S. Revista Cubana de Plantas Medicinales Cuba vol. 17<sup>vo</sup>; 2012.
5. Brack Egg AJ. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. Cuzco-Perú; 1999.
6. Cáceres A. Plantas Medicinales de Guatemala. Editorial Universitaria de la Universidad San Carlos; Guatemala; 1995.
7. King S, Gershoff S. Nutritional evaluation of three underexploited Andean tubers; *Oxalis tuberosum* (oxalidaceae), *Ollucus tuberosum* (Basellaceae) and *Tropaeolum tuberosum* (tropaeolaceae). Economic Botany [revista en internet]; 1987. [acceso 12 de mayo]; 1(1). Disponible en: <http://www.información/RMIP/rmipp57/art3-a.htm>.
8. Mayhua García HY. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2008.
9. Coaquira Apaza BH. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engleriana* Kranzlin Feddes Repert. "wawillay" en cobayos, [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2008.
10. Salazar Poma A. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli" en cobayos [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
11. Franco Cárdenas VH. Evaluación de la Actividad Diurética de *Krameria lappacea* "ratania" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2003.
12. Oriundo Quispe SH. Tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz del *Foeniculum vulgare* "hinojo" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2003.
13. Prado N. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2008.
14. Manrique Durand JP. Efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* "diente de león". [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2005.
15. González Huamán V. Evaluación de la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* "sillkau" en cobayos [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2004.
16. Pérez Damián T. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* Lam. Pers. "kimrsa chucu" en ratas [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
17. Barrera V, Tapia C, Monteros A. Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Editorial (INIAP) Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Quito-Lima; 2004.

18. Gómez A. Efectos de la Nutrición Mineral sobre el crecimiento y rendimiento de la *Tropaeolum tuberosum* "mashua". [Tesis]. Lima. Universidad la Molina; 1998.
19. Grau A, Ortega Dueñas R, Nieto Cabrera C y Hermanan M. Mashua *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 25. International Potato Center, Lima. Peru/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; 2003.
20. Delgado Núñez CJ. Características Morfológicas asociadas al rendimiento en mashua, bajo condiciones de Alpachaca a 3600 msnm. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 1978.
21. Cobo B. Historia nuevo mundo, vol.2 Ediciones el Atlas, Madrid España; 1956.
22. Ministerio de Agricultura. Manual para Caracterización in situ de cultivos nativos, conceptos y procedimientos. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria-INIEA; Proyecto de conservación in situ de cultivos nativos y parientes silvestres. [revista en internet]. 2006. [acceso 2 de junio del 2013]; 1(2):4-9. Disponible en: <http://www.inia.gob.pe/transparencia/adicional/otros/RJ-00247-2011.pdf>
23. Tapia ME. Cultivos Andinos Subexplotados y su Aporte a la Alimentación 2ª ed. Santiago de Chile; 1997.
24. Tineo C. Cultivo de la mashua. Instituto Nacional Agraria Proyecto TTA. Folleto N° 06 Lima. Perú; 1993.
25. Ministerio de Salud. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos; Instituto Nacional de Salud; Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Lima; 2011.
26. Fuertes C, Negron L, Carreño M, Guerra G. Glicosinolatos de *Lepidium peruvianum*, *Tropaeolum tuberosum*, elucidación estructural y actividad antitumoral. Jornada de Investigación. Facultad de Farmacia Bioquímico. UNMSM. Lima; 1999.
27. Amaya O, Cueva E, Castañeda B, Y Ibáñez Vásquez, Evaluación de la citotoxicidad en *Artemia salina* y la toxicidad aguda en ratones, del extracto metanólico de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", V Congreso Mundial de Medicina Tradicional [revista en internet]. 22- 24 abril de 2005. [acceso 8 de febrero del 2013]; 5 (8). Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu>.
28. Johns T, Kitts W, Newsome F, Neil G. Los efectos medicinales Anti-reproductores y otros de *Tropaeolum tuberosum*, Ethnopharmacol. Berlín-Alemania. [revista en internet]. 1982. [acceso 14 de mayo del 2012]; 5 (2) Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7057655>.
29. Dolores L, Espín S. Compuestos cianogenéticos en mashua ecuatorianas. Resúmenes IX congreso de cultivos andinos. Cuzco– Perú; 1997.
30. Salcedo M. Herbolario de Chajaya revela sus secretos. Ediciones Sempa. Bolivia; 1986.
31. Terrazas F. Valdivia F. La dinámica espacial en la conservación in situ, ocupándose de la diversidad genética de tubérculos andinas en los sistemas de mosaico. La planta, los recursos Geneáticos. Boletín informativo. Chile; 1998. Disponible en : <http://www.condesan.org/e-foros/insitu99/fterrazas.htm>
32. Guyton A. Tratado de Fisiología Médica. 10° ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México; 2001.
33. Joaquín del Río. Farmacología básica. 3ª ed. Editorial Síntesis, S.A. España; 2003.
34. Goodman Gilman A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9°ed. Editorial McGraw-Hill-Interamericana; México; 1996.

35. Litter M. Tratado de Farmacología Experimental y Clínica. Editorial el ateneo. Buenos Aires - Argentina; 1996.
36. Rémington G. Farmacia. Tomo II. 20<sup>va</sup> ed. Buenos Aires – Argentina; 2003.
37. Flórez J. Farmacología Humana, 4<sup>ta</sup> ed. Editorial Masson S.A., España; 2003.
38. Miranda M. y Cuellar A. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos, Universidad de la Habana”; Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba; 2000.
39. Vásquez Reyna CL. Validación Farmacológica de la Actividad diurética de hojas de Flor de muerto *Tagetes erecta* L, hojas de santo domingo *Baccharis trinervis* Lam y hojas matasano *Casimiroa edulis* Llave. Et Lex. en infusión acuosa en ratas. [Tesis]. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2008.
40. Arroyo Acevedo JL, Cisneros Hilario CB. “Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica”, Lima-Perú: Editorial Asdimor S.A.C; 2012.
41. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2<sup>a</sup> ed. Lima. Fondo Editorial; 1994.
42. Fahey J. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic properties, part 1. Trees for life Journal. [revista en internet]. 2005. [acceso 25 de junio de 2012]; 1(5). Disponible en: <http://www.tfljournal.org/article.php/20051201124931586>.

## **ANEXOS**

## Anexo 1

Tabla 1. Certificado de la clasificación taxonómica



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. Liz Karina, YACHAPA BARRIENTOS, 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
SUBCLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	GERANIALES
FAMILIA	:	TROPAEOLACEAE
GENERO	:	<i>Tropaeolum</i>
ESPECIE	:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> R.& P
N.V.	:	"mashua"


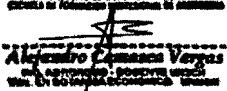
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 13 de Noviembre del 2012

Sra. Liz Karina Yachapa Barrientos

## Anexo 2

Tabla 2. Certificado de identificación de ecotipos

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA</b> <b>FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS</b> <b>Programa de Investigación en cultivos Alimenticios – PICAL</b>	
<p>El suscrito, Ingeniero Agrónomo, profesor de la Cátedra de Tuberosas Andinas, Magister en Botánica económica, adscrito al Programa de Investigación en Cultivos Alimenticios, de la Escuela de Formación Profesional de Agronomía, de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNSH;</p>		
<p style="text-align: center;"><b><u>CERTIFICA</u></b></p>		
<p>Que, la Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Srta. Liz Karina Yachapa Barrientos; ha solicitado la identificación de tubérculos de Ecotipos de Mashua (<i>Tropaeolum tuberosum</i> L.), procedentes de la localidad de Huancabamba-Andahuaylas, para la ejecución de su trabajo de Tesis.</p>		
<p>Los Ecotipos de Mashua han sido sometidos a su análisis botánico, de acuerdo a sus características morfológicas y corresponden a lo siguiente:</p>		
<b><u>M U E S T R A C L A V E</u></b>	<b><u>ECOTIPO</u></b>	<b><u>CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS</u></b>
01	CMHA-01	Q'ello qaspas
		Peridermo de color amarillo-naranja, forma obovada, ojos hundido o profundos.
02	CMHA-02	Yana mashua
		Peridermo de color negro, forma clavado, ojos Semiprofundos.
03	CMHA-03	Sangre de Cristo-I
		Peridermo con color primario amarillo-pálido y color secundario rojo en forma de jaspes verticales notables y en todo el peridermo, forma obovado, ojos semiprofundos.
04	CMHA-04	Sangre de Cristo-II
		Peridermo con color primario amarillo-naranja y color secundario rojo en forma de jaspes verticales pronunciado y en todo el peridermo forma oblongo-alargado, ojos superficiales.
<p>Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente.</p>		
<p>Ayacucho, 12 de Noviembre de 2012</p>		
<p style="text-align: right;"><small>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Formación Profesional de Agronomía</small>  <b>Alejandro Camacho Vargas</b> <small>Mag. Agronomía y Alimentos Mag. En Botánica Económica</small></p>		

### Anexo 3



Figura 9. Ecotipos de *Tropaolum tuberosum* R.&P. "mashua"

#### Anexo4



Figura 10. Secado de ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua"

## Anexo 5



Selección y secado del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P.



Filtrado y concentrado.

Macerado por siete días.



Extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* R.&P "mashua"

Figura 11. Flujograma del procedimiento de extracción hidroalcohólico

## Anexo 6



Figura 12. Pesado de las ratas

## Anexo 7

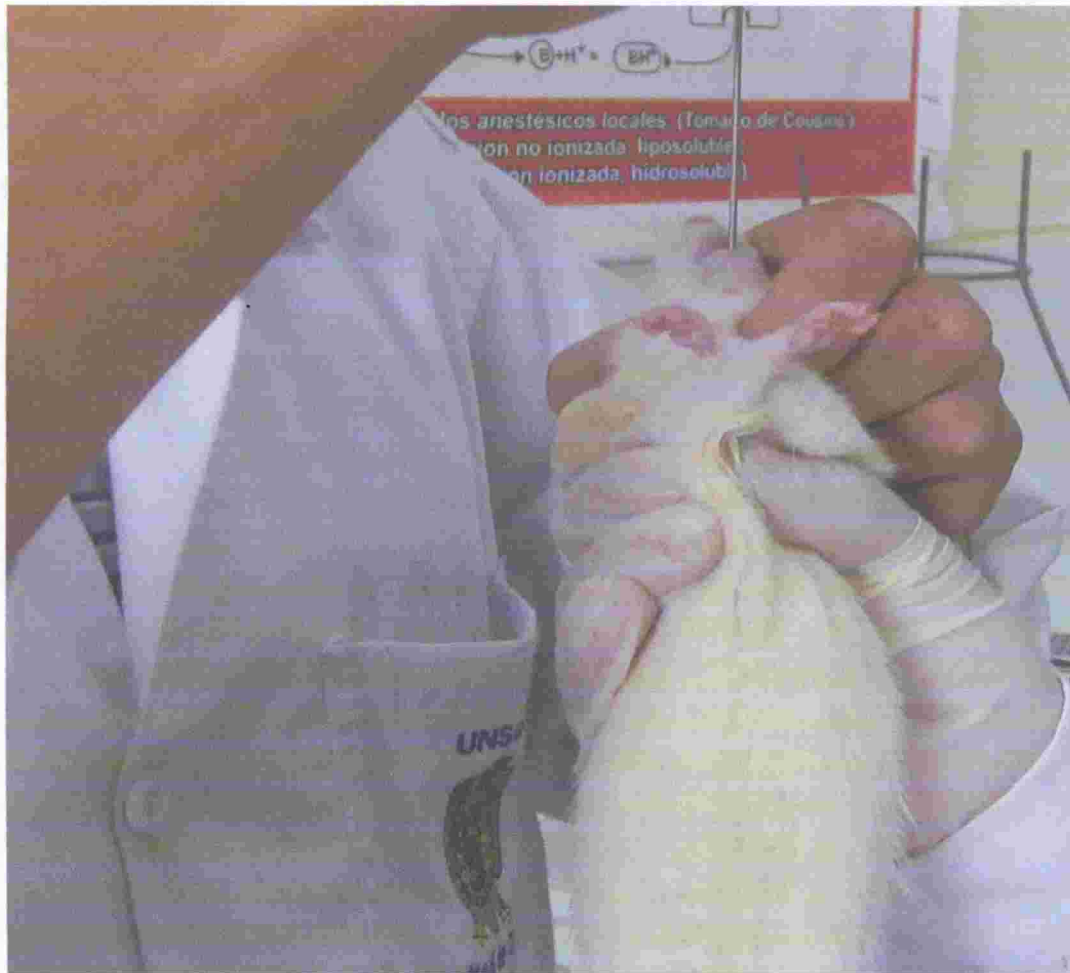


Figura 13. Administración oral del extracto hidroalcohólico de ecotipos

Anexo 8



Figura 14. Medición del volumen de orina en ratas

Anexo 9



Figura 15. Muestras de orina

## Anexo 10

Tabla 3. Volúmenes de orina en ratas, según tiempo

		Tratamientos					
		Sol. cloruro de sodio 0.9% (Blanco)	Furosemida (Control)	Ecotipos de mashua			
				Qello Qaspa	Yana Mashua	Sangre de Cristo I	Sangre de Cristo II
Tiempo (h)	Hora (h)	Volumen de orina (ml)	Volumen de orina (ml)	Volumen de orina (ml)	Volumen de orina (ml)	Volumen de orina (ml)	Volumen de orina (ml)
	1	2,30	24,10	26,90	14,20	8,40	4,10
	2	1,00	6,40	1,75	6,60	11,10	2,90
	3	1,00	1,40	1,25	3,20	5,40	1,70
	4	1,40	6,40	0,65	2,60	6,90	2,80
	5	0,70	2,80	2,00	8,00	5,30	2,00
	6	0,60	1,70	0,60	2,30	3,90	1,40
	7	0,60	2,10	4,20	3,10	2,60	0,70

## Anexo 11

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de los tratamientos

Tto. volumen (ml)	N	Media	Desviación Típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
BL	5	1,5200	0,3701	0,1655	1,0604	1,9796	1,00	1,90
FUR	5	8,9800	2,0825	0,9313	6,3942	1,5658	5,30	10,40
QQ	5	7,4700	0,9731	0,4352	6,2617	8,6783	6,45	8,90
YM	5	8,0000	0,9192	0,4111	6,8586	9,1414	6,40	8,70
SC I	5	8,7200	1,3368	0,5978	7,0602	0,3798	7,30	10,20
SC II	5	3,1200	0,4919	0,2200	2,5092	3,7308	2,70	3,90
total	30	6,3017	3,1320	0,5718	5,1322	7,4712	1,00	10,40

## Anexo 12

Tabla 5. Análisis de varianza (ANOVA) de la variación del volumen promedio de orina (ml)

		Suma de		Media		
		cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Volumen (ml)	Inter-grupos	95,573	3	31,858	33,350	0,000
	Intra-grupos	15,284	16	0,955		
	Total	110,857	19			

### Anexo 13

Tabla 6. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la variación del volumen promedio de orina (mi)

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamientos	N	Subset for alpha = 0,05	
		1	2
SC II	5	3,1200	
QQ	5		7,4700
YM	5		8,0000
SC I	5		8,7200
Sig		1,000	0,221

#### Anexo 14

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria (%EVU)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Excreción	Inter-grupos	11015,865	3	3671,955	37,910	0,000
Volumétrica	Intra-grupos	1549,760	16	96,860		
Urinaria (%)	Total	12565,625	19			

### Anexo 15

Tabla 8. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamientos	N	Subset for alpha = 0,05		
		1	2	3
SC II	5	22,3260		
YM	5		59,3460	
QQ	5		69,8380	69,8380
SC I	5			86,2280
Sig		1,000	0,363	0,077

## Anexo 16

Tabla 9. Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de actividad diurética (%AD)

		Suma de	gl	Media	F	Sig.
		cuadrados		cuadrática		
Actividad	Inter-grupos	13017,241	3	4339,080	9,074	0,001
Diurética	Intra-grupos	7651,379	16	478,211		
(%)	Total	20668,620	19			

## Anexo 17

Tabla 10. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la actividad diurética

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamientos	N	Subset for alpha = 0,05	
		1	2
SC II	5	36,3820	
QQ	5		87,4260
YM	5		92,1420
SC I	5		102,3400
Sig		1,000	0,707

## Anexo 18

Tabla 11. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón "mashua"

Metabolitos secundarios	Resultados				Características
	QQ	YM	SCI	SCII	
Flavonoides	+++	+++	+++	++	Coloración naranja
Aminoácidos	+++	++	+++	+++	Coloración azul violáceo
Catequinas	++	+++	+++	+	Verde carmelita en UV.
Taninos y fenoles	++	+++	+++	++	Coloración negruzca.
Dragendorff	+++	-	+++	++	Hay formación de precipitados en todas las reacciones.
Alcaloides Mayer	++	-		+	
Wagner	+++	-	+	+	
Saponinas	++	-	+	+	Formación de espuma
Lactonas	+	-	+	+	Coloración rojo
Resinas	++	-	+		Formación de precipitados
Cardenolidos	+	+	+	+	Coloración violáceo
Azucares reductores	+	+	+	+	Precipitado rojo ladrillo

**Leyenda:** Ausencia:(-)  
 Reacción: Rx. Leve:(+)  
 Positivo: (+) Moderado:(++)  
 Abundante:(+++)

Anexo 19

Tabla 12. Examen de electrolitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> y Ca<sup>++</sup> en orina de ratas

MINISTERIO DE SALUD



**HOSPITAL NACIONAL ARZOBISPO LOAYZA**

Departamento de Patología Clínica y Banco de Sangre  
Servicio de Bioquímica

Examen: Electrolitos (Na, K, Cl, Ca)

Muestra remitida: Orina de rata

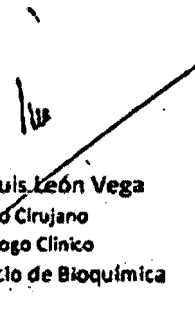
Referencia: BACH. LIZ K. YACHAPA BARRIENTOS

Fecha: 30 / abril / 2013

Grupos	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ca <sup>++</sup>
BLANCO	68 mEq/l	193.25 mEq/l	145.8 mEq/l	1.67 mEq/l
FUROS 02	107 mEq/l	71.88 mEq/l	142.3 mEq/l	2.01 mEq/l
QELLO03	93 mEq/l	82.86 mEq/l	156.3 mEq/l	0.27 mEq/l
YANA04	63 mEq/l	80.84 mEq/l	113.2 mEq/l	0.30 mEq/l
SC I 05	95 mEq/l	53.59 mEq/l	143.3 mEq/l	1.10 mEq/l
SC II 06	34 mEq/l	173.3 8 mEq/l	90.6 mEq/l	1.25 mEq/l

VALORES NORMALES DE ELECTROLITOS EN ORINA DE RATAS

Na	K	Cl	Ca
40-210 mEq/l	2.5-120 mEq/l	110-220 mEq/l	2.11 - 2.62 mEq/l

  
Dr. José Luis León Vega  
Médico Cirujano  
Pediátrico Clínico  
Jefe de Servicio de Bioquímica



Anexo 20

Tabla 13. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&P. "mashua" en ratas. Ayacucho-2012.	¿Existirá variación del efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&P. "mashua"?	<p><b>General:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la variación del efecto diurético de cuatro ecotipos del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua".</li> </ul> <p><b>Específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua".</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Antecedentes</li> <li>Clasificación de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua"</li> <li>Descripción botánica</li> <li>Antecedentes históricos</li> <li>Ecotipos</li> <li>Tubérculo</li> <li>Composición química</li> <li>Estudio toxicológico</li> <li>Usos tradicionales</li> <li>Farmacología renal</li> <li>Fisiología renal</li> <li>Diuréticos</li> <li>Clasificación</li> <li>Furosemida</li> <li>Estructura química</li> <li>Mecanismo de acción</li> <li>Farmacofinética</li> <li>Efectos adversos</li> <li>Indicaciones</li> </ul>	<p>Existe variación del efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua".</p>	<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua".</p> <p><b>Indicador:</b></p> <p>Ecotipos del tubérculo, a la dosis de 500 mg/kg.</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Efecto diurético en ratas.</p> <p><b>Indicador:</b></p> <p>Volumen de orina</p> <p>Concentración de electrolitos Na-K-Cl en mEq/l.</p>	<p><b>Tipos de Investigación</b></p> <p>Básica Experimental</p> <p><b>Población:</b> Cuatro ecotipos de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua" recolectadas en el centro poblado de Huancabamba de la provincia de Andahuaylas departamento de Apurímac ubicado a 3800 m.s.n.m.</p> <p><b>Muestra:</b> Un kg del tubérculo fresco, de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R.&amp;P. "mashua"</p> <p><b>Método:</b> Determinación del efecto diurético en ratas de un producto natural, por método Naik et al.</p> <p><b>Animales de experimentación</b></p> <p>30 ratas machos con peso entre 200-300 g.</p> <p><b>Análisis estadísticos.</b></p> <p>Se realizó Anova y para identificar las posibles diferencias de prueba se usó Tukey con un nivel de confianza de 95%.</p>

# Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" en ratas. Ayacucho - 2012.

Liz Karina Yachapa Barrientos<sup>1</sup>, Enrique J. Aguilar Felices<sup>1</sup>  
Farmacia y Bioquímica: UNSCH

## RESUMEN

Los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal del agua y electrolitos en casos de enfermedades cardiovasculares, insuficiencia renal y enfermedades hepáticas. El *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" tiene demostrada la actividad diurética, pero se desconoce cual de los ecotipos tiene mejor actividad diurética. La investigación fue de tipo experimental, cuyo objetivo fue determinar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de sus cuatro ecotipos en ratas, en los Laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre del 2012 a febrero del 2013. Los ecotipos fueron colectados en el centro poblado de Huancabamba de la provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac. La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik *et al.* en ratas, citado por Cotillo<sup>1</sup>, distribuidas en seis grupos de cinco animales cada uno. El primer grupo recibió solución salina al 0,9%, el segundo furosemida y el tercero, cuarto, quinto y sexto, 500 mg/kg del extracto hidroalcohólico de cada uno de los ecotipos. El efecto diurético se expresó como porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) y el contenido de electrolitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> y Ca<sup>++</sup> mediante el método de Electroodos Selectivos de Iones (ISE)<sup>2</sup>. El ecotipo de Sangre de Cristo I produjo 86,23%, Qello Qaspa 69,84%, Yana mashua 59,35% y con Sangre de Cristo II 22,33% de EVU respectivamente, comparando con 75,30% de EVU para la furosemida, se halló diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (p<0,05). Los ecotipos de Sangre de Cristo I y Qello Qaspa fueron buenos natriuréticos y el Sangre de Cristo I fue un buen ahorrador de potasio. Se concluye que los ecotipos Sangre de Cristo I y Qello Qaspa tuvieron una mejor actividad diurética. Palabras clave: *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" ecotipos, efecto diurético.

## SUMMARY

Diuretics are drugs that stimulate the renal excretion of water and electrolytes in cases of cardiovascular disease, kidney failure and liver disease. The *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" has demonstrated the diuretic activity, but it is unknown which of the ecotypes has best diuretic activity. The research was experimental, whose objective was to determine the diuretic effect of the hydroalcoholic extract of its four ecotypes in rats, in the laboratories of the area of Pharmacy from the Faculty of Biological Sciences at the Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, during the months of September 2012 to February 2013. Ecotypes were collected in the center of village of Huancabamba province of Andahuaylas, department of Apurimac. The diuretic activity was determined using the method of Naik *et al.* in rats, cited by El Cotillo<sup>1</sup>, distributed into six groups of five animals in each group. The first group received saline solution at 0.9 %, the second furosemide and the third, fourth, fifth and sixth, 500 mg/kg of the hydroalcoholic extract of each of the ecotypes. The diuretic effect is expressed as a percentage of volumetric urinary excretion ( %EVUS) and electrolyte content Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and Ca<sup>++</sup> using the method of ion-selective electrodes (ISE)<sup>2</sup>. The ecotype of Blood of Christ I produced 86.23 %, Qello Qaspa 69.84 %, Yana Mashua 59.35 % and with the Blood of Christ II 22.33 % of the EVU respectively, compared with 75.30 % of the EVU for furosemide, was found statistically significant differences among treatments (p<0.05 ). Ecotypes of the Blood of Christ I and Qello Qaspa natriuretic were good and the Blood of Christ I was a good saver of potassium. It is concluded that the Blood of Christ ecotypes and Qello Qaspa I had a best diuretic activity. Key Words: *Tropaeolum tuberosum* R. &P. "Mashua" ecotypes, diuretic effect. Key Words: *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" ecotypes, diuretic effect.

## INTRODUCCIÓN

Los diuréticos son medicamentos que aumentan la velocidad de flujo urinario y la excreción de sodio, que son utilizados para ajustar el volumen y la composición de los flujos corporales que son utilizados en una variedad de situaciones clínicas como enfermedades cardíacas congestivas, síndrome nefrótico, hipertensión y que también se utilizan en edemas en mujeres embarazadas. La mayoría de los fármacos diuréticos tienen efectos adversos como impotencia, fatiga y debilidad. Los diuréticos de origen natural incluyen a la cafeína presente en el café, té y refrescos de cola; estas inhiben la reabsorción de sodio, los diuréticos al ser administrados son muy eficaces al eliminar sodio y potasio; que toda pérdida de potasio causa una búsqueda de diuréticos ahorradores de potasio; por lo tanto se busca un nuevo agente diurético que conserve la eficacia terapéutica.<sup>3</sup>

En la actualidad el uso de los diuréticos representa una excelente alternativa como terapia inicial de las enfermedades renales y de la hipertensión arterial. En la práctica médica existe un amplio arsenal terapéutico de fármacos sintéticos que son empleados para tratar estas afecciones, no obstante, la población utiliza con estos fines un número considerable de decocciones e infusiones de plantas medicinales, que se han transmitido de generación en generación mediante un enfoque etnobotánico.<sup>4</sup> Los problemas de la salud y el difícil uso de los medicamentos sintéticos han llevado de nuevo a la humanidad a la búsqueda de la medicina tradicional; es así que el conocimiento de las plantas medicinales ha vuelto a tener un auge acelerado y cada día se ubica en un destacado lugar como una de las medicinas alternativas del futuro que garantice la eficacia, seguridad y de bajo costo, siempre y cuando sean usados en forma adecuada y asesorado por un personal especializado.

El Perú, es un país privilegiado al poseer una gran diversidad de flora, por el legado cultural de nuestros pueblos, muchas de las plantas pertenecientes a esta diversidad son utilizadas como un recurso medicinal natural para el tratamiento de las afecciones.<sup>5</sup> La mayoría de ellas no cuentan con estudios farmacológicos que validen las actividades terapéuticas atribuidas a las mismas, por lo que es importante realizar dichos estudios, dando a conocer su potencial terapéutico para que puedan ser utilizadas de forma adecuada y segura y de esta manera contribuir con la población que las utilice.<sup>6</sup> Las raíces y tubérculos andinos constituyen un reservorio de variabilidad genética de gran diversidad para el mundo. Crecen en los Andes, a

una altitud entre los 2400 a 4800 m.s.n.m. y por consiguiente tienen gran potencial para su introducción en otras áreas montañosas donde los cultivos del viejo mundo no se adaptan.<sup>7</sup>

En el presente trabajo se evaluó el efecto diurético de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" comparando con productos semejantes del mercado farmacéutico con la finalidad de superar la fase empírica del uso, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

### Objetivo general:

- Determinar la variación del efecto diurético de cuatro ecotipos del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".

### Objetivos específicos:

- Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".
- Realizar el dosaje de electrolitos en orina de ratas por efecto del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo del *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua".

## MATERIALES Y METODOS

### Lugar del trabajo de investigación

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de setiembre del 2012 a febrero del 2013.

### Población y muestra

#### Población

Conformado por cuatro ecotipo del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua"; Qello Qaspa (QQ), Yana Mashua (YM), Sangre de Cristo I (SC I) y Sangre de Cristo II (SCII), obtenidos en el centro poblado de Huancabamba de la provincia de Andahuaylas del departamento de Apurímac, ubicado a 3800 m.s.n.m.

**Muestra vegetal:** Un kg del tubérculo de cada ecotipo.

#### Diseño de investigación

Tipo: básico

Nivel: descriptivo

#### Unidad de experimentación

Se utilizaron 30 ratas albinas machos, con peso promedio de 200 – 300 g.

## Métodos para la recolección de datos

### Recolección y selección de la muestra

Las muestras del tubérculo de cada ecotipo fueron recolectadas en bolsas y llevadas a los Laboratorios del Área de Farmacia, donde se seleccionó y se lavó para eliminar los componentes de contaminación, el tubérculo se cortó en láminas delgadas.

### Preparación del extracto hidroalcohólico.

Las muestras se secaron en la estufa a 40° por tres días. Luego se procedió a pulverizarlas, para macerar los 100 g de la muestra obtenida, se vació en un frasco de color ámbar con tres litros de alcohol a 80° por un periodo de siete días; previamente se agitó; después se filtró y se procedió a concentrar al vacío utilizando el rotavapor Buchi 3000 para la eliminación del disolvente.

### Tamizaje fitoquímico.

Se realizó las pruebas pertinentes para la identificación cualitativa de los principales metabolitos secundarios, con reacciones simples específicas de coloración y precipitación.<sup>8</sup>

### Determinación de la actividad diurética

Consistió en la administración de un volumen conocido de solución salina y después se midió la cantidad de líquido eliminado por efecto diurético de la sustancia ensayada, utilizando como patrón a la furosemida, para la determinación de la actividad diurética. Esta metodología se basó en el método utilizado por Naik y *et al.* y citado por Cotillo.<sup>1</sup>

### Procedimiento experimental

La metodología utilizada se estableció en los siguientes pasos:

- Se privó de agua y alimentos a las ratas, 18 horas antes del inicio del ensayo experimental.
- Los animales se marcaron, pesaron y fueron distribuidos aleatoriamente en seis grupos de cinco animales cada grupo.
- Todos los animales fueron hidratados con solución salina fisiológica al 0,9% en la dosis de 50 ml/kg de peso, se le administró por vía oral mediante cánula intragástrica y después de 15 minutos de hidratación nuevamente se pesaron y se administró el fármaco de control y el extracto de cada uno de los ecotipos.
- Luego, los animales fueron colocados en las jaulas de diuresis y se midió el volumen de orina excretada en cada hora, se registró durante seis horas el volumen correspondiente.
- Con el volumen de orina colectada se calculó el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU), utilizando la siguiente fórmula:

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

Asimismo, el porcentaje de actividad diurética (%AD) según la siguiente fórmula:

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

### Diseño experimental

Los animales fueron distribuidos al azar en seis grupos de cinco animales cada uno, de acuerdo al siguiente esquema:

**Grupo I Blanco (BL):** Solución salina fisiología 50 ml/kg de peso.

**Grupo II Estándar (FUR):** furosemida 20 mg/kg de peso.

**Grupo III:** Extracto hidroalcohólico a dosis de 500 mg/kg de peso del ecotipo QQ. (Qello Qaspa)

**Grupo IV:** Extracto hidroalcohólico a dosis 500 mg/kg de peso del ecotipo YM. (Yana Mashua).

**Grupo V:** Extracto hidroalcohólico a dosis 500 mg/kg de peso del ecotipo SC I. (Sangre de Cristo I).

**Grupo VI:** Extracto hidroalcohólico a dosis 500 mg/kg de peso del ecotipo SC II. (Sangre de Cristo II).

### Método para la determinación de electrolitos

El contenido de electrolitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, y Cl<sup>-</sup> se determinó por el método de electrodos ISE. Electrodo selectivo de iones.<sup>2</sup>

### Análisis de datos

Con los datos obtenidos se procedió a evaluar, mediante el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% (p<0,05).

## RESULTADOS

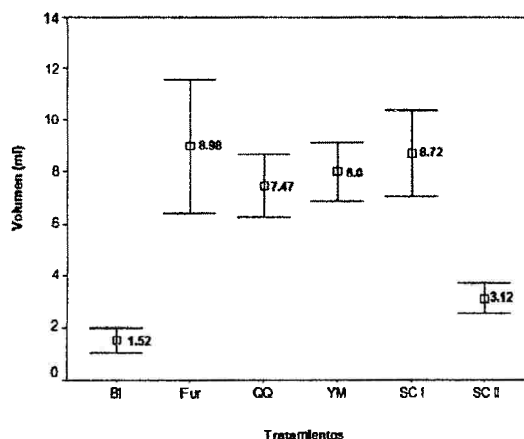


Figura 2. Variación del volumen promedio de orina según tratamientos

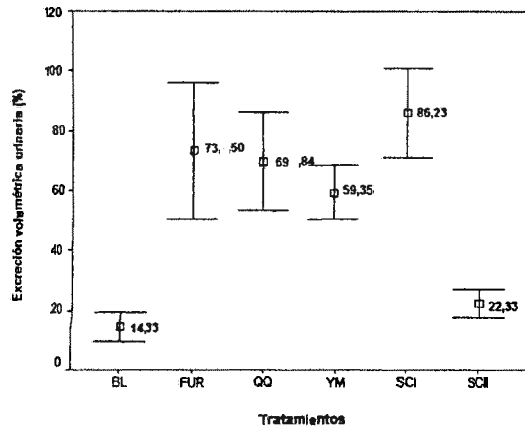


Figura 3. Porcentaje de la excreción volumétrica urinaria (%EVU) según tratamientos

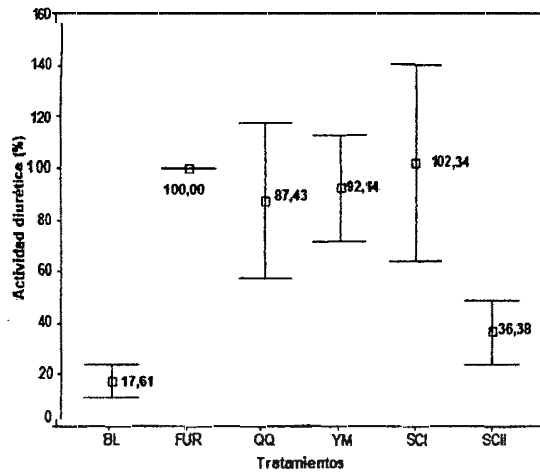


Figura 4. Porcentaje de la actividad diurética (%AD) según tratamientos

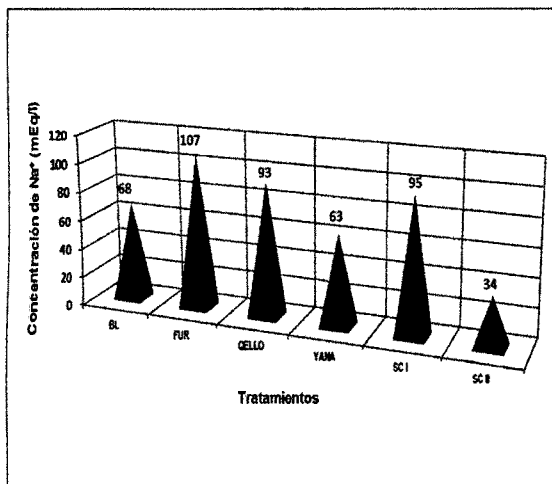


Figura 5. Concentración de sodio (mEq/l) según tratamientos

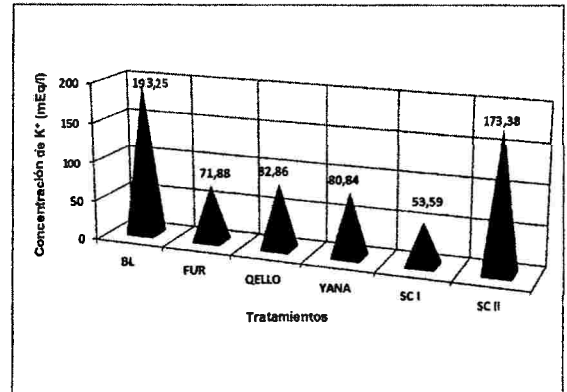


Figura 6. Concentración de potasio (mEq/l) según tratamientos

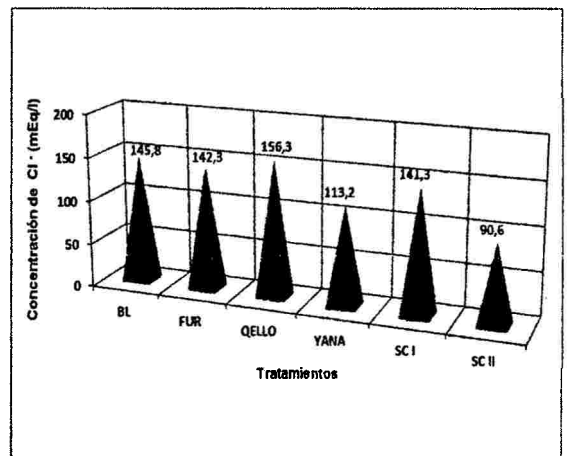


Figura 7. Concentración de cloruro (mEq/l) según tratamientos

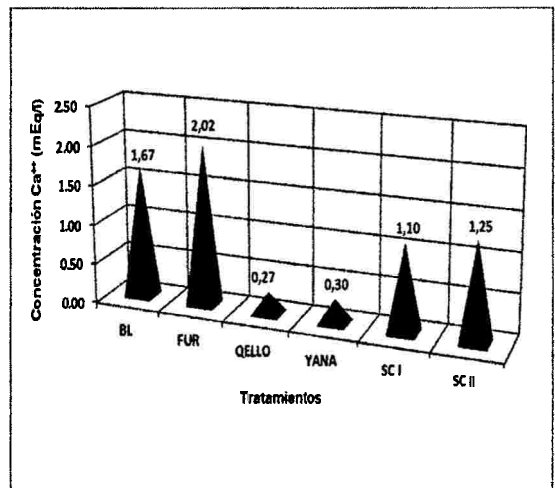


Figura 8. Concentración de calcio (mEq/l) según tratamientos

## DISCUSIÓN

Para evaluar el efecto diurético del *Tropaeolum tuberosum* R.&P. "mashua" se utilizó la furosemida como fármaco estándar ya que es un fármaco diurético de máxima eficacia respectivamente. La diuresis se realizó por efecto del extracto hidroalcohólico de cada ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R.&P "mashua" a concentración de 500 mg/kg de peso.

En la Figura 2, se observa la variación del volumen promedio de orina, en el que se aprecia los promedios de volúmenes de orina de 8,98 ml, 8,72 ml, 8,0 ml, y 7,47 ml para los tratamientos de furosemida, Sangre de Cristo I, Yana Mashua y Qello Qaspa respectivamente, en estos tres ecotipos el volumen promedio de orina excretada es mayor, mientras que el promedio del volumen de orina en la Sangre de Cristo II se obtuvo 3,12 ml y con el blanco se obtuvo 1,52 ml, en estos dos tratamientos el promedio volumen de orina excretada es menor.

Al efectuar el análisis de varianza del volumen promedio de orina, se halló que existen diferencias entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ). El análisis de comparación de medias de Tukey encontró que el ecotipo Sangre de Cristo II tienen menor volumen promedio de orina, mientras que el Qello Qaspa, Yana Mashua y Sangre de Cristo I se aproximan al fármaco estándar sin embargo; el de mayor volumen promedio de orina se consiguió con el Sangre de Cristo I. En un estudio realizado de validación en farmacología de la actividad diurética en plantas por infusión acuosa, se reportó para la furosemida que ha eliminado un promedio de volumen de orina 10,67 ml,<sup>9</sup> el cual difiere en 1,69 ml de promedio de volumen de orina del valor reportado.

En la Figura 3, se muestra los resultados del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU), donde el ecotipo de Sangre de Cristo I obtuvo 86,23%, y el ecotipo Qello Qaspa obtuvo 69,84% de excreción volumétrica urinaria, con la furosemida se obtuvo un 73,50%. El análisis de varianza encontró diferencias estadísticas ( $P < 0,05$ ) entre los porcentajes de excreción volumétrica urinaria en los tratamientos. Y al realizar la prueba de Tukey se encontró que los tratamientos tienen diferentes respuestas biológicas, en los tratamientos de Sangre de Cristo II se encontró 22,33% y tienen un menor porcentaje de excreción volumétrico urinario; para los tratamientos de Yana mashua 59,35% y para el Qello Qaspa 69,84% tiene una mediana excreción volumétrica urinario; sin embargo; el Sangre de Cristo I se aproxima al fármaco estándar y por lo tanto se encontró mayor

excreción volumétrica urinaria, observándose que el ecotipo de Sangre de Cristo I tiene el mayor porcentaje de excreción volumétrica urinaria que los demás ecotipos. En las investigaciones realizadas, se reportaron los porcentajes de excreción volumétrica urinaria para la furosemida se reportó 103,58 % y para el extracto hidroalcohólico de la dosis de 500 mg/kg de peso se halló 48,69% de la excreción volumétrica urinaria; y en otro estudio de investigación se reportó para la furosemida 117,04 % y para el extracto hidroalcohólico de la dosis 200 mg/kg se obtuvo 60,66% de excreción volumétrica urinaria; en ambos experimentos se utilizó ratas, lo cual supera a nuestros resultados, de excreción volumétrica urinaria.<sup>10 11</sup>

En la Figura 4, se muestra el porcentaje de actividad diurética (%AD) observándose que el extracto del ecotipo de Qello Qaspa se encontró 87,43% de actividad diurética, el ecotipo Yana Mashua obtuvo 92,14% de actividad diurética, el ecotipo Sangre de Cristo I obtuvo 102,33% y con la furosemida se obtuvo 100% de actividad diurético; donde el Sangre de Cristo I y la furosemida son ligeramente semejantes. Al realizar el análisis de varianza de la actividad diurética de los ecotipos del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum*, se demuestra que existen diferencias significativa entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ); y por lo tanto se realizó el análisis de comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey se encontró que los tratamientos tienen diferentes respuestas biológicas donde el ecotipo de Sangre de Cristo I tiene mayor efecto, seguidamente; del Yana Mashua y Qello Qaspa. En los trabajos de investigación realizados del efecto diurético se reportaron la actividad diurética de la furosemida que obtuvo 99,40% y para el extracto hidroalcohólico de la dosis de 200 mg/kg se obtuvo 57,60% de actividad diurética que representaría la mitad de la actividad diurético de la furosemida<sup>11</sup>; los valores obtenidos en este trabajo son ligeramente inferiores a nuestro resultados obtenidos en el trabajo.

En la Figura 5, se observa los valores de electrólito de sodio ( $\text{Na}^+$ ) en mEq/l por efecto diurético de los tratamientos. En el presente ensayo se encontró 107 mEq/l de sodio excretado del grupo que recibió furosemida, 95 mEq/l sodio, excretado del grupo que recibió el ecotipo de Sangre de Cristo I y para el ecotipo de Qello Qaspa se encontró 93,0 mEq/l de sodio excretado; estos valores de electrólitos se aproximan a la furosemida. Este resultado se corrobora con lo anteriormente mencionado, que con el ecotipo de Sangre de Cristo I y Qello Qaspa se obtuvo mayor excreción de sodio. Asimismo según

la literatura, la furosemida es un natriurético, es decir su mecanismo diurético es eliminar el catión sodio ( $\text{Na}^+$ ). Según los investigadores que realizaron dosaje de sodio reportaron para la furosemida hasta 200 mEq/l de sodio excretado, valor superior al nuestro; y en otros trabajos de investigación se encontró para la furosemida valores hasta 198 mEq/l de sodio, porque ambos utilizaron cobayos en su investigación<sup>12-13</sup>; y en otro estudio se reportó hasta 158 mEq/l de sodio en la orina del grupo que recibió furosemida y en el grupo que recibió el extracto hidroalcohólico de "mashua" se encontró hasta 93 mEq/l de sodio, que representó un aproximadamente el 60% del contenido de este electrolito; y en otra investigación se encontró para la furosemida 189,59 mEq/l de sodio y para el extracto a la dosis de 100 mg/kg de dicha planta se reportó 68,78 mEq/l de sodio; estos dos últimos investigadores utilizaron ratas.<sup>10-11</sup> La diuresis produce no solamente la eliminación de agua sino también de electrolitos como el sodio y el potasio conjuntamente con el cloro, que es importante su cuantificación, un buen diurético es aquel que elimina la mayor cantidad de sodio y busca el ahorro de potasio.<sup>14</sup>

En la Figura 6, se observa los valores de electrolito del potasio ( $\text{K}^+$ ) en mEq/l por efecto diurético de los tratamientos. Para la furosemida se encontró 71,88 mEq/l de potasio excretado; mientras para el ecotipo de Sangre de Cristo I se obtuvo 53,59 mEq/l de potasio excretado es decir tuvo un comportamiento ligeramente inferior a la furosemida. Por lo tanto diremos que es posiblemente un ahorrador de potasio. En el siguiente trabajo de investigación se reportó para la furosemida 75 mEq/l de potasio en orina de ratas, y para el extracto hidroalcohólico la excreción de potasio se reportó 70 mEq/l.<sup>10</sup>

En la Figura 7, observamos los resultados del cloro (Cl) en mEq/l, correspondiendo al ecotipo de Qello Qaspa que eliminó 156,3 mEq/l de cloro que fue la de mayor excreción con respecto a la furosemida y para esta se obtuvo 142,3 mEq/l de cloro. Finalmente respecto al anión cloruro que acompaña a los cationes de sodio y potasio, este fue eliminado en mayor concentración con el ecotipo de Qello Qaspa que obtuvo 156,3 mEq/l de cloro, ligeramente superior a la furosemida y con el ecotipo de Sangre de Cristo I se obtuvo 141,3 mEq/l de cloro. En las investigaciones realizadas por Pérez encontró para la furosemida 191,54 mEq/l de cloro y el extracto que eliminó la mayor excreción de cloruro fue el de 100 mg/kg de peso que obtuvo 181,36 mEq/l.<sup>11</sup>

En la Figura 8, observamos los resultados de calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) en mEq/l, correspondiente a la furosemida,

como el diurético que eliminó mayor cantidad de calcio 2,02 mEq/l, y el ecotipo que eliminó menor cantidad de calcio fue el Qello Qaspa con 0,27 mEq/l de calcio y seguidamente el ecotipo de Yana Mashua con 0,30 mEq/l de calcio. Según Pérez encontró que la furosemida eliminó 1,85 mEq/l de calcio y con extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/Kg de peso y obtiene una eliminación de 0,62 mEq/l de calcio.<sup>11</sup> El calcio es un electrolito ligado a la función cardíaca participando en la contracción del músculo cardíaco, por lo tanto su eliminación mediante la diuresis podría influir en el funcionamiento cardíaco.<sup>14</sup>

El efecto diurético de los extractos vegetales se explicaría por un incremento tanto en la excreción de agua, excreción de sodio y potasio. La presencia de metabolitos secundarios en los extractos de las plantas serían compuestos polares, tales como flavonoides y principio tipo esteroides.<sup>15</sup>

Los flavonoides son sustancias que representan a uno de los más importantes grupos de compuestos con actividad farmacológica y poseen una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos; muchas de esas propiedades son atribuidas a los flavonoides como: antimicrobiana y diurética.<sup>16</sup>

La *Moringa oleifera* especie de la familia Moringaceae, contiene en sus hojas un glicosinolato. El p-ramnosilbencil- glucinolato. Entre las propiedades medicinales de esta especie es de ser un diurético.<sup>17</sup>

En el tamizaje fitoquímico que se realizaron se encontraron la presencia de flavonoides, aminoácidos, citoquinas, taninos y fenoles, alcaloides, saponinas, lactonas en buena cantidad en los ecotipos de Sangre Cristo I, Yana mashua y en el Qello Qaspa; como también se encontró resinas, cardenólidos azúcares reductores en poca cantidad en los ecotipos Yana Mashua y Sangre de Cristo I (Anexo 18). Los resultados son similares a los obtenidos de Mayhua.<sup>10</sup>

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cotillo Zegarra P. Métodos Farmacológicos en la Investigación de los Productos Naturales: Editorial Jarmad. Lima – Perú; 1990.
2. Roche Diagnósticos GmbH. ISE Indirect. Electrodo Selectivo de Iones; método indirecto, para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  Roche. España; 2007.
3. Vanamala U, Elumalai A, Chinna M, Shaik A. An Updated Review on Diuretic Plants. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives [revista en internet]. 2012

- [Acceso 2 de mayo 2013]; 3(1):29-31. Disponible en: <http://www.ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/view/531> y An Updated Review on Diuretic Plants 2012 pdf.
4. Martínez S, Jiménez M, Del Rio S. Revista Cubana de Plantas Medicinales Cuba vol. 17<sup>vo</sup>; 2012.
  5. Brack Egg AJ. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. Cuzco-Perú; 1999.
  6. Cáceres A. Plantas Medicinales de Guatemala. Editorial Universitaria de la Universidad San Carlos; Guatemala; 1995.
  7. King S, Gershoff S. Nutritional evaluation of three underexploited Andean tubers; *Oxalis tuberosum* (oxalidaceae), *Ollucus tuberosum* (Basellaceae) and *Tropaeolum tuberosum* (tropaeolaceae). Economic Botany [revista en internet]; 1987. [acceso 12 de mayo]; 1(1). Disponible en : <http://www.información/RMIP/rmipp57/art3-a.htm>.
  8. Miranda M y Cuellar A. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos, Universidad de la Habana”; Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba; 2000.
  9. Vásquez Reyna CL. Validación Farmacológica de la Actividad diurética de hojas de Flor de muerto *Tagetes erecta* L, hojas de santo domingo *Baccharis trinervis* Lam y hojas matasano *Casimiroa edulis* Llave. Et Lex. en infusión acuosa en ratas [Tesis] Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2008.
  10. Mayhua García HY. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” en ratas [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2008.
  11. Pérez Damián T. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* Lam. Pers. “kimsa kuchu” en ratas [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
  12. Franco Cárdenas VH. Evaluación de la Actividad Diurética de *Krameria lappacea* “ratania” en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2003.
  13. Manrique Durand JP. Efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* “diente de león”. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2005.
  14. Litter M. Tratado de Farmacología Experimental y Clínica. Editorial el ateneo. Buenos Aires - Argentina; 1996.
  15. Arroyo Acevedo JL, Cisneros Hilario CB. “Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica”, Lima - Perú: Editorial Asdimor S.A.C; 2012.
  16. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2<sup>a</sup> ed. Lima. Fondo Editorial; 1994.
  17. Fahey J. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic properties, part 1. Trees for life Journal. [revista en internet] 2005. [acceso 25 de junio de 2012]; 1(5). Disponible en: <http://www.tfljournal.org/article.php/20051201124931586>