

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

NUEVOS TIEMPOS NUEVAS IDEAS



Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) en ratas albinas

Para optar el Título Profesional de:
Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS

Bach. Córdova Marcelo, Karen Elizabeth
Bach. Inga Ynca, John Ever

ASESOR: Dra. Britt Alvarado Chávez

LIMA – PERÚ
2019

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a *Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.*

A mis maravillosos padres Benito y Ofelia, y a mi hermana Odeth por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su apoyo incondicional y sus consejos para hacer de mí una mejor persona.

A mis nonitos Roberto, Emilia, Ricardo, Lorenza, y a mis tíos Rita y Leoncio que aunque no están físicamente conmigo, sé que desde el cielo siempre me cuidan y guían para que todo me vaya y salga bien.

A mi amada novia Rebeca por su amor, sus palabras, su confianza en mí, por motivarme constantemente cada día a ser perseverante, ser fuerte y brindarme su apoyo incondicional para realizarme profesionalmente.

A mis amigos compañeros y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos.

Karen Elizabeth Córdova Marcelo

Dedico este trabajo principalmente a mi madre Haydee Ynca Villegas, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi padre Víctor Inga, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones.

A mi esposa Yessenia Yauyo, por siempre estar dispuesta a escucharme, ayudarme en cualquier momento y a mi hija Valeria Inga, que es la que me motiva a mirar hacia adelante todos los días. A Kiara, porque te amo infinitamente hermanita.

John Ever Inga Ynca

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme en mi camino y por permitirme concluir con mi objetivo.

A mis padres Benito, Ofelia, y a mi hermana Odeth, quienes son mi motor y mi mayor inspiración, que a través de su amor, paciencia, buenos valores, ayudan a trazar mi camino.

A mis Nonitos porque desde el cielo siempre me protegen y me guían en cada paso que doy.

A mi amada novia Rebeca, por ser el apoyo incondicional en mi vida, ya que, con su amor y respaldo, me ayuda alcanzar mis objetivos.

A la Dra. Britt Alvarado, asesora de tesis, por su valiosa guía y asesoramiento a la realización de la misma.

A mi querida Alma mater la Universidad Inca Garcilaso de la Vega y a todas las autoridades, por permitirme concluir con una etapa de mi vida, gracias por la paciencia, orientación y guiarme en el desarrollo de esta investigación.

Karen Elizabeth Córdova Marcelo

En primer lugar, doy infinitamente gracias a Dios, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.

Agradezco también la confianza y el apoyo brindado por parte de mi madre Haydee Ynca, que sin duda alguna en el trayecto de mi vida me ha demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mi padre, que siempre lo he sentido presente en mi vida.

A mi esposa Yessenia, que con sus consejos me ha ayudado a afrontar los retos que se me han presentado a lo largo del tiempo que estamos juntos.

John Ever Inga Ynca

RESÚMEN

El presente estudio de investigación tuvo por objetivo determinar si el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) tiene actividad diurética en ratas albinas. El método utilizado fue el propuesto por Naik y Col con modificaciones. Para la medición del volumen urinario se utilizaron jaulas metabólicas adaptadas con probetas. Como control positivo se empleó la furosemida a 20 mg/kg. Se utilizaron 25 Ratas, con un peso promedio de 250 -350 g, machos, estos fueron mantenidos en cuarentena durante 7 días con libre disposición de alimentos y agua, en condiciones de ambientación adecuadas en el bioterio de INDACIPS PERU. Se realizó la separación aleatoria a los animales y se procedió a administrar los tratamientos a diferentes concentraciones de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) por vía oral en un volumen igual a 5 mL; al grupo control se administró solución salina en el mismo volumen de 5 mL, al grupo control positivo se administró 5 mL de solución salina por vía oral más una dosis de furosemida 20 mg/kg peso por vía intraperitoneal. Los resultados de la diuresis reportaron a la concentración de 100 mg/kg, una media de diuresis de 2.8 ml, la concentración al 250 mg/kg, reporto una media de 3.3 ml de diuresis y la concentración de 500 mg/kg, una media de 3.8 ml de diuresis. Sin embargo, el medicamento de referencia furosemida, resulto tener mejor actividad diurética 6.90 mL. Después del desarrollo experimental y realizar la prueba estadística de ANOVA, se evidencio que el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra), posee actividad diurética (P-valor<0.05) a diferentes concentraciones, pero estos resultaron fueron menores al medicamento de control (P-valor >0.05)

Palabras clave: Diuréticos, actividad diurética, metabolitos, extracto hidroalcohólico, tubérculo.

ABSTRACT

The objective of this research study was to determine whether the hydroalcoholic extract of the tuber of *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Black Mashua) has diuretic activity in albino rats. The method used was the one proposed by Naik and Col with modifications. For the measurement of urinary volume, metabolic cages adapted with test tubes were used. As a positive control, furosemide was used at 20 mg / kg. Twenty-five rats were used, with an average weight of 250-350 g, males, these were kept in quarantine for 7 days with free provision of food and water, under suitable conditions in the INDACIPS PERU habitat. The animals were randomly separated and the treatments were administered at different concentrations of *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Black Mashua) orally in a volume equal to 5 mL; the control group was administered saline in the same volume of 5 mL, the positive control group was administered 5 mL of saline solution orally plus a dose of furosemide 20 mg / kg weight intraperitoneally. The results of the diuresis reported at the concentration of 100 mg / kg, a mean diuresis of 2.8 ml, the concentration at 250 mg / kg, reported an average of 3.3 ml of diuresis and the concentration of 500 mg / kg, an average of 3.8 ml of diuresis. However, the reference drug furosemide, resulted to have better diuretic activity 6.90 mL. After the experimental development and perform the statistical test of ANOVA, it was evidenced that the hydroalcoholic extract of the tuber of *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Black Mashua), has diuretic activity (P-value<0.05) at different concentrations, but these were lower than the control medication (P-value >0.05)

Key words: Diuretics, diuretic activity, metabolites, hydroalcoholic extract, tuber.

ABREVIATURAS

ANOVA: Análisis de Varianza

CIMEL: Ciencia e Investigación Médico Estudiantil Latinoamericana

CIP: Centro Internacional de la papa

INS: Instituto Nacional de Salud

INDACIPS PERÚ: Instituto de Asesoría Capacitación e Investigación Profesional Perú.

INIAP: Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria

ÍNDICE

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

Abreviaturas

		Pág.
	Introducción	1
CAPÍTULO I	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1	Descripción de la realidad problemática	2
1.2	Formulación de Problemas	3
1.2.1	Problema general	3
1.2.2	Problemas Específicos	3
1.3	Objetivos	3
1.3.1	Objetivo general	3
1.3.2	Objetivos específicos	3
1.4	Justificación e importancia del estudio	4
CAPÍTULO II	MARCO TEÓRICO	6
2.1	Antecedentes Teóricos	6
2.1.1	Internacionales	6
2.1.2	Nacionales	12
2.2	Bases teóricas	14
2.2.1	<i>Tropaeolum tuberosum R&P</i>	14
2.2.2	Descripción botánica	14
2.2.3	Taxonomía vegetal	16
2.2.4	Formas de utilización del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum R&P</i> . (Mashua negra)	16
2.2.5	Composición química de <i>Tropaeolum tuberosum R&P</i> . (Mashua negra)	17
2.2.6	Diuréticos	17
2.2.7	Clasificación de los diuréticos	17
2.2.8	Extracto	19
2.3	Hipótesis	19
2.3.1	Hipótesis general	19
2.3.2	Hipótesis específicas	19
2.4	Variables	20
2.4.1	Tabla de Operacionalización de Variable	20

2.5	Marco conceptual	20
CAPÍTULO III	METODOLOGÍA	22
3.1	Tipo de estudio	22
3.2	Diseño de estudio de Investigación	22
3.3	Población	23
3.4	Muestra	23
3.5	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	23
3.5.1	Equipos materiales y reactivos	23
3.5.2	Procedimiento Experimental	25
3.5.3	Extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	25
3.5.4	Marcha de solubilidad método de Domínguez	25
3.5.5	Análisis fitoquímico de metabolitos	25
3.5.6	Procedimiento de la actividad diurética	27
3.6	Procesamiento y análisis de datos	30
CAPÍTULO IV	PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	31
4.1	Presentación de Resultados	31
4.2	Contrastación de Hipótesis	37
4.3	Discusión	39
CAPITULO V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
5.1	Conclusiones	41
5.2	Recomendaciones	42
REFERENCIAS	BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS		48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	30
Tabla 2	Marcha fitoquímica (MP) extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	30
Tabla 3	Marcha fitoquímica extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	31
Tabla 4	Actividad Diurética extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	31
Tabla 5	Actividad Diurética extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) Furosemida 20 mg/kg	32
Tabla 6	Actividad Diurética extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) 100 mg/kg	32
Tabla 7	Actividad Diurética extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) 250 mg/kg	34
Tabla 8	Actividad Diurética extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) 500mg/kg	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ciudad de Urubamba Cuzco	14
Figura 2	Distrito de Ollantaytambo Provincia de Patacacha Urubamba-Cuzco	14
Figura 3	<i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	15
Figura 4	Vitamina A	16
Figura 5	Vitamina C	16
Figura 6	Esquema de actividad diurética	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1	Comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del control negativo (Suero Fisiológico)	32
Grafico 2	Comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del control negativo (Furosemida)	33
Grafico 3	Comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra.) 100mg/kg	34
Grafico 4	Comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra.)250 mg/kg	35
Grafico 5	Comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Secado de la especie vegetal	48
Anexo 2	Obtención del extracto	49
Anexo 3	Prueba de solubilidad	49
Anexo 4	Reactivos utilizados en prueba de Solubilidad	50
Anexo 5	Marcha Fitoquímica	51
Anexo 6	Actividad diurética	51
Anexo 7	Administración del Extracto Hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P.(Mashua negra) en ratas albinas	52
Anexo 8	Control de volúmen de orina en ratas albinas	52
Anexo 9	Certificado de la especie botánica en estudio	53
Anexo 10	Certificado del bioterio de adquisición de ratas	54
Anexo 11	Matriz de consistencia	55
Anexo 12	Juicio de Expertos	56

INTRODUCCIÓN

Las carreras profesionales de salud y sobre todo la de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, están siempre investigando, nuevos activos, provenientes de todos los rincones del país con actividades farmacológicas. La preparación de una nueva tableta, cápsula, jarabe o crema, es la meta del profesional formado en la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

Las asignaturas recibidas como son la Fitoquímica y la farmacognosia, abren la puerta enorme para el empleo de la medicina tradicional en el padecimiento de las enfermedades. Los pobladores de nuestro país desde épocas remotas siempre, han recurrido a las plantas medicinales para la prevención y curación de sus enfermedades, y aprendió a domesticarlas y a utilizar los principios activos curativos presentes en ellas.

Este es el caso de *Tropaeolum tuberosum R&P.* (Mashua negra), un tubérculo utilizado en la alimentación, con una gran cantidad de compuestos nutritivos, pero también con un abanico de metabolitos secundarios, que identificados correctamente podrían tener aplicaciones médicas. Hoy en día, las enfermedades modernas, alteraciones metabólicas, y trastornos circulatorios, son tratados con una extensa batería de compuestos químicos sintéticos, y poco o nada mejoran la calidad de vida de los pacientes, sin embargo, las plantas, demuestran mejores alternativas de tratamiento sin la aparición de problemas relacionados a los medicamentos.

Existen estudios de las propiedades alimenticias del *Tropaeolum tuberosum R&P.*, (Mashua negra), ahora debemos evaluar con una demostración científica, las propiedades medicinales de esta planta y proponerla como alternativa de tratamiento en las personas que sufren problemas de acumulación de líquido y que pueden alterar el sistema cardiovascular

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los diuréticos se utilizan en procesos médicos donde existen estados edematosos asociados a enfermedades crónicas como la hipertensión arterial. Esta sigue siendo un problema de salud pública, ya que es una enfermedad crónica y no da síntomas, solo dificulta su diagnóstico y es la principal causa de morbilidad cardiovascular en los países desarrollados y afecta a millones de personas en el mundo.

En el caso de alteraciones metabólicas y trastornos en el equilibrio hídrico, se utilizan diuréticos tiazídicos o diuréticos de Asa. Las enfermedades cardiovasculares están asociadas a estos desequilibrios, pero también pueden aparecer enfermedades como diabetes, renales, trastornos en la actividad sexual; hoy por hoy es objeto de estudio y preocupación.

La *Tropaeolum tuberosum* **R&P** (Mashua negra) ha sido de uso común por mucho tiempo en la medicina popular debido a sus propiedades farmacológicas, particularmente por su efecto sobre cálculos renales, anemia, vías urinarias y próstata (1).

Como consecuencia de este hecho, se comienza la búsqueda de mejores fármacos con actividad diurética. El posible efecto diurético de *Tropaeolum tuberosum* **R&P**. (Mashua negra), se debe a una fuente importante de potasio, es utilizado para regular tanto el volumen como la composición del medio interno en diferentes afecciones. En este sentido, aún existe la necesidad de buscar nuevos agentes diuréticos alternativos y naturales con menores efectos secundarios (2).

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema General

¿El extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) tendrá actividad diurética en ratas albinas?

1.2.2 Problemas específicos

1.- ¿Qué metabolitos secundarios presentará el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) responsables de la actividad diurética en ratas albinas?

2.- ¿Cuál será la dosis óptima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas?

3.- ¿Cuál será la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P (Mashua negra) respecto a la furosemida en ratas albinas?

1.3. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo General

Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) en ratas albinas.

1.3.2 Objetivos específicos

1.- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) responsables de la actividad diurética en ratas albinas.

2.- Determinar la dosis óptima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas.

3.- Comparar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) respecto a la furosemida en ratas albinas.

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

En Perú, uno de los problemas creciente de salud es la hipertensión, se debe al estilo de vida, stress y alimentación no saludable. Nuestro país es uno de la región que, en los últimos años ha alcanzado cifras elevadas de hipertensión. Se estima, por ejemplo, de que uno de cada cuatro mayores de 40 años padece esta enfermedad y que el próximo año, 2 de cada diez personas mayores morirán por este silencioso mal. Una causa de la hipertensión es la volemia o acumulación de líquidos; esta genera mayor carga a los vasos sanguíneos; por consiguiente; incremento de la presión. Los médicos concuerdan que si se disminuye la volemia se puede controlar la presión arterial, por lo tanto, una de las estrategias de tratamiento radica en provocar diuresis.

En Perú, existe una flora inmensa con propiedades terapéuticas por descubrir, este es el caso de la Mashua negra que en el interior del país se utiliza como alimento y también como un potencializador sexual. En el distrito de Urubamba, los pobladores reportan que la mashua negra tiene la propiedad de aumentar el volumen urinario; por lo tanto, la importancia de esta investigación radica en validar esta propiedad a través de ensayos en animales de experimentación y proponerlo como un tratamiento concomitante a la hipertensión arterial (3).

El estudio; se justifica; porque los beneficiarios de esta investigación serán los pobladores de la provincia de Urubamba departamento del Cuzco y todos los pobladores del Perú que consuman los preparados a bases de este tubérculo ya que es económico y está al alcance de los pobladores. Para las ciencias farmacológicas, este estudio abre un abanico de futuras investigaciones sobre la presencia de otros tubérculos con propiedades diuréticas.

Las limitaciones encontradas en el trabajo fueron:

- La dificultad para conseguir la especie botánica en su habidad, ya que se encuentra a mucha altura y en zona agreste por lo que se necesita un guía para ubicar su locación.
- El acondicionar un espécimen vegetal que pudiera resistir las condiciones del viaje y pudiera llegar sin deterioro para que pueda realizarse la taxonomía y parte experimental.
- La necesidad de contar con un bioterio para desarrollar la parte experimental y demostrar la actividad diurética de la especie vegetal en estudio.
- El poco tiempo para investigar, debido a otras obligaciones en el trabajo y asuntos personales y familiares.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.1.1 Internacionales

Zampini, 2005 “Demostró potencialidades fitoterapéuticas de dos Especies de Baccharis”. Para realizar el estudio, se recolectó las especies botánicas de Baccharis incarum y Baccharis boliviensis a una altura de 3900 msnm. Los pobladores andinos recomiendan su uso en enfermedades del aparato digestivo y sistema hepático. En el estudio, se demostró un gran potencial antioxidante y gran potencial antibacteriano y puede emplearse en la elaboración de productos farmacéuticos y cosméticos, así como en la elaboración de productos para la alimentación. Los estudios más alentadores ubican a esta planta en un potencial terapéutico alto sobre todo para enfermedades como el cáncer, enfermedades autoinmunes, trastornos cardiovasculares y daños neurovegetativos. Se recomienda su uso para prevenir el envejecimiento celular (4).

Ramírez J, Mauricio O. (2006) realizó un estudio titulado “la acción diurética de la planta de la familia Salvia scutellarioides”, usando ratas en el experimento. Para este estudio, fue necesario la utilización de 24 ratas de la especie Sprague-Dawley, las ratas elegidas fueron machos de 250 – 300 g de peso; para el desarrollo de la parte experimental, se prepararon 4 grupos de trabajo. Al grupo uno; se le administró solución salina; al segundo grupo se le administró solución de furosemida 10 mg/kg; al tercer y cuarto, grupo se le administró la muestra de trabajo 1 g/kg y 2 g/kg, respectivamente). La dosis de administración para cada grupo fue estandarizada en 25 ml/kg de peso del animal. Para la recolección de orina, las ratas fueron acondicionadas en jaulas metabólicas individuales. Los resultados de la evaluación demostraron que S. scutellarioides en dosis de 1 y 2 g/kg provocó el aumento de la eliminación de orina mayor en comparación con el grupo control. Los resultados validan la información tradicional sobre el uso de esta planta, teniendo una posibilidad de ser usada como antihipertensiva (5).

Noriega A. (2015) realizó un estudio titulado “determinar la acción diurética del extracto de la especie vegetal medicinal *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia* (Lima)”. Con este estudio, se quiso validar la actividad farmacológica del extracto acuoso de estas plantas, utilizando sus hojas como parte activa y siguiendo el método de Naik y col, modificado por Saravia, se realizó la evaluación con 36 ratas con un peso aproximadamente de 200 – 300 g todos machos. Para este estudio fue necesaria la formación de 4 grupos experimentales, cada grupo contenía 3 ratas cada uno. Los grupos utilizaron diferentes modelos, al grupo N1 se administró una solución de furosemida con una dosis de 25mg/Kg de peso, al grupo N2 se le administro agua destilada y al grupo 3 y 4 se le administro 750 y 1000 mg/Kg de peso. Los animales fueron acondicionados en jaulas metabólicas según el modelo revisado por el investigador, los animales fueron acondicionados individualmente para la recolección de la excreta de orina. La orina fue medida en probetas a intervalos de 2 horas hasta por un tiempo de 6 horas. Para determinar los resultados, fue necesario realizar una prueba de significancia de varianza (ANDEVA). Los resultados demostraron que el extracto acuoso de las plantas a evaluar en las dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso posee un efecto diurético significativo, como lo demuestra el p-valor menor a 0.05 indicando que las hojas de Mandarina (*Citrus reticulata*), Lima (*Citrus aurantifolia*) y toronja (*Citrus paradisi*) tienen propiedades diuréticas (6).

Puig M. (2015) realizó un estudio titulado “el efecto diurético de la mezcla de urtica urens y matricaria chamomilla”. Esta prueba fue realizada en ratas Wistar. Se trata de un estudio innovador en dos fases; en la fase 1, se utilizó 5 grupos de cuatro ratas por cada grupo, este grupo tuvo la finalidad de determinar la mezcla más apropiada para determinar la concentración. Los grupos estuvieron comprendidos por el grupo N1 que utilizó agua, el grupo N2 que utilizó furosemida, el grupo 3, 4 y 5 que utilizó concentraciones de (20-80), (50-50), (80-20), respectivamente. En la segunda fase, se utilizaron 6 grupos, cada grupo de 4 ratas, este modelo se realizó con la finalidad de comparar las mezclas, para la cual se administró por espacio de 8 horas, en las cuales se midió el volumen de orina. Los resultados fueron apreciables. La mezcla al 20 por ciento y al 80 por ciento, demostraron un incremento

apreciado del volumen urinario con lo cual se concluye la mezcla de urtica urens y matricaria chamomilla, tienen efecto diurético (7).

Martínez S. (2012) realizó una investigación titulada “la capacidad diurética de Noni-C (*Morinda citrifolia* L.)”. para este estudio se utilizó 40 ratas de la especie Wistar genero macho de un peso aproximado de 250 – 260 g. el estudio se realizó formando 5 grupos al grupo N1 se le administro furosemida 20 mg/kg, el grupo N2 se administró cloruro de sodio, al grupo 3,4,5 de administro Noni-C a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg. Las ratas fueron acondicionadas en jaula metabólicas por separado para proceder a la recolección de orina y cuantificación del volumen y electrolitos de sodio potasio y calcio. Los volúmenes mayores cuantificados fueron de 31 y 35 mL en 24 horas, valor muy similar a la registrada por la furosemida 38 mL. La estadística demostró que el p valor es menor a 0.05 con lo cual se concluye que Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) posee actividad diurética a 200 y 400 mg/kg (8).

Duad A. (2007) realizó un estudio titulado “la actividad experimental diurética en ratas Wistar del extracto acuoso de hojas y corteza de la planta *Polylepis australis* Bitter (queñoa) tras administración oral”. Para la parte experimental se utilizaron ratas de un promedio de peso de 250 – 300g machos en buen estado de salud, con el extracto obtenido, se prepararon dosis las cuales fueron distribuidas de la siguiente manera:

Grupo 1 extracto al 200 mg/Kg de peso, grupo 2 dosis de 400mg/kg de peso, control 4 de furosemida al 20 mg/kg). La intención era determinar el desequilibrio de sodio y potasio a través de la cuantificación de orina. Los resultados reportaron que el extracto acuoso de hojas y corteza de queñoa, *Polylepis australis* Bitter, tiene la capacidad de comportarse como un diurético tiazidico, provocando un incremento razonable en la eliminación de orina, asimismo el resultado demostró un incremento en la eliminación de catión sodio y potasio. Estos resultados son muy importantes ya que la población tiene información popular de que esta planta reduce la presión arterial, lo que queda demostrado tras la administración de Queñoa (9).

Felipe G. (2011) realizó un estudio titulado “capacidad diurética de los extractos al estado seco y al estado acuosos de *caesalpinia bahamensis* lam (brasilete) realizado en animales de experimentación”. Para realizar este estudio, fue necesario emplear 30 ratas de la familia Wistar todas hembras y de un peso aproximado de 170- 210 g. el desarrollo experimental, estimo la formación de 6 grupos de investigación, empleando 4 muestras y dos controles. Para controlar el volumen de orina eliminada, cada rata fue colocada en jaulas metabólicas. La estadística para inferir los resultados utilizó la técnica de ANOVA y de Student – Newman – Keus. Los resultados demostraron que, con la furosemida, el volumen de diuresis fue de 4.50 mL, el control que fue suero fisiológico, evidencio 1.5 mL, el extracto preparado por método del vapor reportó 3.15 mL, el preparado por atomización reporto 4.05 y por maceración 3.4 mL. La grafica de Anova demostró un p-valor menor a 0.05 demostrando que el extracto al estado seco y al estado acuosos de *caesalpinia bahamensis* lam (brasilete) posee un efecto diurético a las 2 horas de ser administrada con lo que se concluye que tienen capacidad diurética (10).

Alvis a. (2013) realizó una investigación titulada “el efecto diurético de extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook)”, para este estudio fue necesario la utilización de ratas sanas que fueron inducidas a edema. Para obtener el extracto fue necesario realizar la maceración de la planta por 7 días con movimiento mañana y noche, posteriormente se filtró y se dejó secar en estufa hasta peso constante. Con el producto obtenido, se realizó la marcha fitoquímica para determinar los metabolitos. También estuvo planificado la realización de un estudio histológico. La evaluación se realizó utilizando extracto de 500 mg/kg y la verificación histológica con 1000 mg/kg. Las ratas fueron administradas con los extractos y se procedió a cuantificar los niveles de orina y electrolitos por el método de espectrofotometría. “En el modelo agudo, ambos extractos mostraron un significativo efecto diurético y de excreción renal de sodio y potasio en comparación con el control, mientras que con la administración en dosis repetidas a corto plazo mostraron efecto diurético sin eliminación de electrolitos”. Al evaluar histológicamente los resultados, no se evidencio

efectos de toxicidad, renales y hepáticos. La actividad diurética es aceptable. Se concluye que el extracto etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook), presenta actividad diurética y se propone la investigación de los metabolitos secundarios responsables de esta acción (11).

Cañas J. (2011) realizó un estudio titulado determinación de la actividad diurética y antinefrolitiasico de la *Manicaria Saccifera*. Para ello fue necesario la utilización de un modelo experimental que contara con ratas Wistar hembras con un peso aproximado de 260 – 290 g y de 8 semanas de edad, alimentadas con nutrición Purina. En el modelo diurético y en el modelo antinefrolitiasico, se utilizó el mismo tipo de ratas, pero se indujo a la lesión con etilenglicol. Se evaluó la toxicidad aguda y la toxicidad sub aguada. Los animales fueron acondicionados en el bioterio de universidad del Valle, se controló las condiciones de luz y oscuridad para su comodidad, se controló la temperatura interna del bioterio 22-26°C, y se utilizaron jaulas metabólicas para mantenerlas de manera individual y recolectar la orina. La observación del estudio de mortalidad tras la aplicación de *Manicaria saccifera* 10 ml/Kg IP no provoco respuesta de toxicidad inicialmente pro al paso de los días (14 días), se evidencio un cambio significativo. También se evidencio en esta prueba un descenso del peso de las ratas y un incremento del volumen de las vísceras, microscópicamente se observó lesiones en el hígado. La dosis administrada de la planta 10 ml/Kg demostró poseer un efecto diurético mayor que el control, pero menor que el fármaco de referencia usado que fue la furosemida. “Los estudios corroboran la aparente actividad diurética y antinefrolitiásico reportada por practicantes de la medicina tradicional de la *Manicaria saccifera*” (12).

Morales V. (2015) realizó una investigación usando el fruto de *Parmentiera aculata* como planta de estudio. Para esta investigación, empleó el modelo del investigador Murino, con el que se evaluó la actividad antiurolítica de los extractos hexánico, clorofórmico, metanólico y acuoso de *Parmentiera aculeata* (Kunth) Seem. (Bignoniaceae). Este modelo propuso la formación de cálculos vesicales por la implantación quirúrgica de una placa de magnesio en la vejiga urinaria, para esta investigación fue necesario el uso de ratas de 250 – 300 machos de 4 meses de edad. A los 28 días de implantado, se

verifico por radiografía la presencia de cálculos en la vesícula. El diseño separó a las ratas en varios grupos de la siguiente forma: grupo 1 furosemida 0.25 mg kg, grupo 2 agua destilada, grupo 3 extracto 70 mg kg. Al término de la fase experimental, los resultados demostraron que la eliminación de orina en 24 horas fue de mayor que las ratas tratadas con furosemida, los extractos metanólico y hexánico reportaron un volumen de diuresis de 36.19, 33.0 y 34.9 mL. Después de la prueba de diuresis, las ratas fueron eutanizadas para extraer de la vejiga los cálculos que fueron una variedad de estruvita. “Los tratamientos con extracto hexánico y extracto acuoso fueron los más efectivos, ya que se obtuvieron cálculos vesicales de un peso significativamente menor al resto de los tratamientos (0.06 g; P = 0.0228)”. “Lo anterior contrasta con los resultados del tratamiento con extracto clorofórmico, el cual favoreció la urolitiasis (peso promedio de los cálculos = 0.15 g) y provocó la excreción de los menores volúmenes de orina (24.5 mL)”. Se observó que los tratamientos con los extractos hexánico y metanólico, provocaron la fragmentación de los cálculos producidos; esto es un aspecto relevante, ya que puede favorecer la eliminación de los mismos a través de la orina. Los resultados obtenidos confirman el uso de *P. aculeata* en la medicina tradicional para tratar la urolitiasis (13).

Bernal M. (2006) realizó un estudio titulado “comprobar el efecto diurético de una flavona aislada del extracto acuoso de *Boldoa Purpurascens* (Nitro Blanco)”. Este estudio utilizó ratas machos de aproximadamente 170 -250 g de la especie Sprague Dawley. Después de la preparación del extracto, se pudo aislar por marcha Fitoquímica compuestos flavonoides y por cromatografía la parte bioactiva que fue benzodioxalano, un compuesto de la familia de los flavonoides. El desarrollo experimental. Tomo el modelo de Drug Discover Pharmacological Assay, se formaron 6 grupos de trabajo las cuales estuvieron constituidos por las siguientes dosis: 100, 50, 25 12, 6, 3 mg/Kg de peso del producto y los controles. El control de la diuresis se realizó por jaulas metabólicas y pro periodo de 6 horas. Los valores hallados en cada parámetro se testaron por el método de Kruskal Wallis y Mann-Whitney U determinado que el flavonoide tiene acción diurética de elevada eficacia, al igual que el extracto acuoso de donde proviene. “Se determinó que el producto evaluado provoca mayor volemia que la furosemida sin modificar la

excreción de los iones, lo que permitió sugerir que pertenezca a un grupo de sustancias diuréticas llamadas acuaréticas descubiertas en el 2003, actuando por apertura de los canales de agua (acuoporin)". La dosis (50mg/kg) del producto resultó ser menos expoliador de potasio que la furosemida lo que permitió concluir que pudiera ser más recomendable para pacientes con patologías renales y cardíacas a esta dosis (14).

2.1.2 Nacionales

Pacco W. (2015) realizó un estudio titulado "la capacidad antioxidante del producto deshidratado de Mashua (*Tropaeolum tuberosum R. et P.*)" elaborado en la forma de puré. Este trabajo determinó parámetros relacionados al soleado, cocción y estabilidad de esta planta, asimismo, se determinó la presencia de compuestos fenólicos y como estos interactúan en el proceso para prevenir la oxidación. La metodología reportó la utilización de (2,2 Azino bis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) ABTS una técnica para cuantificar capacidad antioxidante por medio de la espectrofotometría UV. La muestra fue recolectada en el distrito de Coasa de la provincia de Carabaya y en la Universidad Nacional La Molina. Los resultados se sometieron al software Statgraphics v22, donde se evaluó los 3 factores de estudio, de días de soleado, tiempo y temperatura de cocción en la influencia de capacidad antioxidante. Los resultados demostraron que el factor soleado resultó no ser significativo ($p > 0.05$) y el tiempo y temperatura de cocción resultaron altamente significativos ($p \leq 0.01$) de un total de 16 Tratamientos el más óptimo fue el T9 con una temperatura de 60 °C y con un tiempo de 10 minutos, para la mayor retención de capacidad antioxidante de 4.692 μmol trolox eq. /g. al realizar la evaluación de los compuestos fenólicos por espectrofotometría y utilizando la técnica ABTS, los resultados demostraron una retención de 50.032 mg de ácido gálico/100 g correspondientes a compuestos fenólicos. Al concluir el estudio se pudo determinar que la cantidad de compuestos fenólicos es de 50.032 mg de ácido gálico/100 g. no existe la estabilidad de antioxidantes fenólicos en almacenamiento acelerado (15).

Surco F. (2004) realizó un estudio titulado “Caracterización de almidones hallados en tubérculos andinos Oca (*Oxalis tuberosa*), Olluco (*Ullucus tuberosum*) y Mashua (*tropaeolum tuberosum*) para su aplicación tecnológica”. La presente evaluación estimo la técnica de secado de por atomización de rodajas de este tubérculo a diferentes temperaturas 40°C, 50°C y 60°C. la significancia de los datos fue sometido a la prueba de ANOVA hallando un p-valor menor a 0.05 lo que confirma mayor capacidad de secado y mejor conservación de la actividad antioxidante. Estos resultados, podrían ser útiles para valorar el efecto de los métodos de secado y que sus efectos benéficos podrían ser interesantes para la industria alimentaria (16).

Flores N. (2015) realizó un estudio titulado “la capacidad antioxidante de una bebida elaborado con la formulación de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) con capacidad antioxidante”, la prueba determino el nivel de pH, la cantidad de azúcares, compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante. La formulación fue sometida a un análisis sensorial, el grupo de personas se separó en grupos para poder determinar las 8 formulaciones mediante este análisis. Los resultados demostraron que la formulación número 1 presenta mayor preferencia por sus características organolépticas, (color, aroma, sabor y aceptabilidad general) el contenido de compuestos fenólicos presentes en la preparación fue cuantificado mediante los métodos Folin-Ciocalteu, pH diferencial y 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), respectivamente. Las preparaciones utilizando mashua fresca, reporto un contenido alto de fenoles alrededor de 14,48 y 23,78 mg AGE/100 g muestra; de antocianinas monoméricas entre 3,37 y 9,08 mg cianidina-3-glucósido/100 g muestra y de capacidad antioxidante entre 8,51 y 24,50 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra. Por otro lado, las preparaciones con mashua seca reporto un nivel de compuestos fenólico de 17,46 y 23,09 mg AGE/100 g muestra; antocianinas monoméricas entre 5,82 y 11,79 mg cianidina-3-glucósido/100 g muestra y capacidad antioxidante entre 14,30 y 26,02 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra (17).

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1. La especie *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

Considerado como el tubérculo de mayor importancia en el Perú después de la oca o similares como es el olluco o la papa nativa. Este producto se desarrolla en estado silvestre en la región húmeda y territorio de altura de los países americanos y en otros países europeos. El desarrollo de este tubérculo se ve favorecido por la altura, encontrándose cultivos a 3550 y 4500 msnm. La mashua tiene la facilidad de crecer en lugares pobres de fertilización y en suelos agrestes; y cuando se cosecha, su rendimiento es superior a la papa (19)

En la comunidad de Patacacha, provincia de Urubamba, Cuzco que pertenece a Ollantaytambo. A 3,400 msnm crece y se desarrolla la mashua y las comunidades campesinas observan; en este tubérculo; un recurso importante para su alimentación y actividades comerciales.



FIGURA N°1 Ciudad de Urubamba Cuzco
Fuente: WWW Google Satelital.com.pe

FIGURA N°2 Distrito de Ollantaytambo
Provincia de Patacacha Urubamba Cuzco
Fuente: WWW Google Satelital.com.pe

2.2.2. Descripción botánica del *Tropaeolum Tuberosum* R&P. (Mashua negra)

La mashua está dentro de la denominación de herbáceas, mide alrededor de 30 a 70 cm presenta tallos erguidos delgados, aéreos de 5 mm de diámetro. Sus hojas son de color verde que cambia de tonalidad por el haz o envés, presenta flores de color rojizo. Al crecer la planta, desarrolla una postura erecta, la cual va modificándose hasta curva.

La Mashua cruda tiene un sabor amargo, algo picante, parecido al sabor del rábano o la mostaza. Esta característica ha hecho que se la consuma únicamente luego de cocinarla. Al ser cocinada, elimina un compuesto denominado isotiocianato. Las hojas de este tubérculo son muy ricas como vegetales verdes y sus flores lo son aún más todavía pues contienen valores nutritivos al momento de comerlas.

TALLOS

Los tallos son de forma cilíndrica; su crecimiento es recto o en posición semipostrada y presenta ciertas ramificaciones de color violeta oscuro.

HOJAS

La Mashua tiene hojas delgadas con forma redondeada de color verde oscuro brillante en el haz y un poco más claras en el envés, lo que les permite tener un follaje compacto. Las hojas tienen una forma redondeada.

FLORES

Las flores son de varios colores que van desde las tonalidades amarillas o anaranjadas hasta un rojo oscuro, con cinco sépalos rojos y cinco pétalos amarillos. Tienen entre 8 y 13 estambres y el tiempo en que las flores permanecen abiertas es entre 9 y 15 días.

TUBÉRCULOS

Son cónicos, alargados y de yemas profundas; miden entre 5 y 15 cm de largo y poseen una textura arenosa debido al elevado contenido de carbohidratos y agua. Sus colores son variados, tales como el amarillo, anaranjado, blanco, rojo, morado, gris y negro. Su sabor es picante.⁽¹⁾



Figura N°3 Tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

Fuente: Perú.info

2.2.3 Taxonomía Vegetal

Temoche et al., (2004) menciona que la ubicación taxonómica del *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) es la siguiente:

Reino: Vegetal.

Clase: Angiospermas.

Sub clase: Dicotiledoneas.

Orden: Geraniales.

Familia: Tropaeolaceae.

Género: *Tropaeolum*.

Especie: *tuberosum*

Nombre Científico: *Tropaeolum Tuberosum* R&P

Nombres comunes: mashua, año, cubios, navios, isaño.

2.2.4 Formas de utilización del tubérculo de *Tropaeolum Tuberosum* R&P. (Mashua negra)

El tubérculo de mashua pueden prepararse de la siguiente manera.

Como un alimento; se hacen cocer los tubérculos en trozos pequeños y se comen con verduras cocidas.

Como Medicamento; se emplea en enfermedades como cálculos del aparato renal, como un antibiótico natural, sobre cepas de *Staphylococcus* Cándida A, y *E. coli*.

Como antiafrodisiaco; ya que se encarga de disminuir el apetito sexual (20).

2.2.5 Composición química del *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

La materia biológica utilizada en este procedimiento puede tener carotenos (vitamina A) y de Vitamina C (77mg en 100 gramos de materia fresca comestible), siendo cuatro veces más que la cantidad de esta vitamina encontrada en la papa. (21).

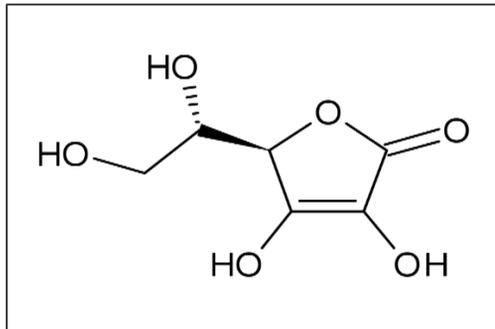


FIGURA 4 VITAMINA A

Fuente: Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2^a ed.

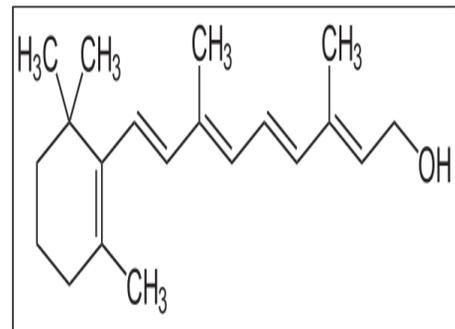


FIGURA 5 VITAMINA C

Fuente: Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2^a ed.

2.2.6 Diuréticos

Los diuréticos son drogas que reducen el volumen de líquido extracelular, aumenta la excreción urinaria de cloruro de sodio y en forma secundaria, incrementan el volumen de orina excretado por los riñones. Los diuréticos se utilizan sobre todo para prevenir y reducir el edema y la ascitis. Estos trastornos se asocian con enfermedades cardíacas, renales y hepáticas. Estos agentes también se utilizan para el tratamiento de la hipertensión, la diabetes insípida, los cálculos renales, la hipercalcemia, la insuficiencia renal aguda y crónica y el síndrome nefrótico (21).

2.2.7 Clasificación de los diuréticos

a. Diuréticos osmóticos

Los diuréticos osmóticos son sustancias que en solución son marcadamente hipertónicas. Estas drogas retienen agua ejerciendo una presión osmótica por los túbulos sin ser reabsorbidos y filtrando por el glomérulo, cuando se “administran por vía intravenosa” producen una diuresis osmótica elevada ya que actúan deteniendo la reabsorción de cloro y sodio (22).

El manitol es el diurético osmótico utilizado con mayor frecuencia es filtrado en el glomérulo y no es reabsorbido en los túbulos renales; debido a sus efectos osmóticos en los túbulos proximales, el manitol impide la reabsorción de agua e interfiere en la reabsorción de sodio a través de la concentración de este ion en el líquido tubular.

b. Inhibidores de la anhidrasa carbónica

Actúan predominantemente en el túbulo proximal. Como la acetazolamida, dorzolamida. Su mecanismo de acción se puede resumir así: disminuye la reabsorción de sodio porque el cotrasporte de Na^+ / H^+ dispone de menos hidrógenos. La enzima anhidrasa carbónica (CAH) acelera la regulación del equilibrio de la reacción: $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$.

b. Tiazídicos

En este grupo se encuentran los diuréticos tiazidicos que aumentan la excreción de sodio a través de la inhibición de la reabsorción de sodio en el segmento cortical (grueso) de la rama ascendente del asa de Henle y en el segmento inicial de los túbulos distales. Estas drogas también aumentan la excreción urinaria de cloro, potasio y en menor medida bicarbonato. Entre estos, se encuentran Bendroflumetiazida, Benzotiazida, Ciclotiazida, Clortalidona, Hidroclorotiazida, Hidroflumetazida (23).

d. Diuréticos ahorradores de potasio

Comprenden la espironolactona, el triamtreno y la amilorida. Estos agentes ejercen un efecto similar en la composición de los electrolitos urinarios provocan una natriuresis leve y reducen la excreción de iones potasio e hidrogeno (24).

e. Diuréticos de asa (alta eficiencia)

Comprenden el ácido etacrínico, la furosemida y la bumetanida; son los agentes diuréticos más potentes en la actualidad. El denominador común de ellos es que ejercen su acción principal en la rama ascendente (gruesa) del asa de Henle cortical y medular. Los diuréticos del asa inhiben el transporte activo de cloro, y posiblemente también de sodio, en este nivel de la nefrona.

Son eficaces aun en presencia de alteraciones de los electrólitos y el equilibrio acido básico. (25)

2.2.8 Extracto

Es el producto obtenido después de macerar una parte útil de la planta, generalmente alcohol, pero también puede ser otros compuestos como agua, glicerina, aceites. Mediante este proceso; los componentes activos de la planta y los metabolitos son extraídos para poder ser analizados y demostrar si tienen actividad farmacológica en el tratamiento de diferentes enfermedades (26).

2.3 HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis General

El extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum R&P*. (Mashua negra) presenta actividad diurética en ratas albinas.

2.3.2 Hipótesis Específica

1.- Los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum R&P*. (Mashua negra) son los posibles responsables de la actividad diurética en ratas albinas

2.- Existe una concentración optima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum R&P*. (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas

3.- La actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum R&P*. (Mashua negra) es mayor respecto a la furosemida en ratas albinas

2.4 Variables

2.4.1 Tabla de Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum Tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	Se trata de preparados de consistencia líquida, que se de algunas partes de la planta o de la planta en su totalidad. Según la consistencia se tendrán los diferentes tipos de extractos: extracto blando, extracto fluido, extracto seco etc.	Producto obtenido de la maceración de órganos de las plantas en soluciones hidroalcohólicas	Prueba de solubilidad Marcha Fitoquímica	Muy Soluble Soluble Poco soluble Insoluble Taninos Flavonoides Alcaloides Fenoles Cumarinas Saponinas glicosidos
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Actividad diurética	Son compuestos químicos que administrados pueden provocar el incremento en la eliminación de orina y electrolitos para aliviar procesos de acumulación de líquidos	Capacidad de tiene una sustancias para aumentar el volumen de diuresis	Diuresis Volumen de orina excretado	Alto Medio bajo

2.5.- Marco conceptual.

- 1. Aplicación.** Colocación de una cosa sobre otra o en contacto con otra de modo que quede adherida o fijada o que ejerza alguna acción. (27)
- 2. Diuresis.** La diuresis es la secreción de orina tanto en términos cuantitativos como cualitativos. También se define como la cantidad de orina producida en un tiempo determinado. (27)
- 3. Dosis.** Cantidad de fármaco que se administra en una determinada unidad de tiempo para producir el efecto farmacológico deseado. (28)

4. **Extracto.** Un extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. (36)

5. **Extracto Hidroalcohólico.** Es una mezcla de agua y alcohol. Se aplica en particular a los extractos o tinturas obtenidos de plantas, extrayendo primero con agua, dejando evaporar esta y extrayendo seguidamente con alcohol. (28)

6. **Metabolito.** Los metabolitos son compuestos, generalmente orgánicos, que participan en las reacciones químicas que tienen lugar a nivel celular. El conjunto de estas reacciones bioquímicas, junto a los procesos físico-químicos intracelulares, constituye el metabolismo celular, la base molecular de la vida. (29)

7. **Micción.** La micción es un proceso mediante el cual la vejiga urinaria elimina la orina, contenida, cuando está llena. (27)

8. **Oca.** La oca es una planta que se cultiva en la puna de los Andes centrales y meridionales y entre los 3000 y los 3900 msnm en los Andes septentrionales, es un tubérculo dulce comestible rico en almidón (30-31)

9.- **Tratamiento.** - Un tratamiento es un conjunto de medios que se utilizan para aliviar o curar una enfermedad, llegar a la esencia de aquello que se desconoce o transformar algo (32)

10.- **Volúmen.** - Es la capacidad de espacio que puede ocupar un líquido, en este caso la cantidad de líquido que puede almacenar la vejiga (33).

CAPÍTULO III

MÉTODO

3.1 Tipo de estudio

El tipo de investigación del presente estudio es básica y Aplicada

Analítico: Debido a que nos permitirá analizar los diferentes componentes que presentan los extractos y como estos influirán en la actividad diurética.

Experimental: Debido a la introducción de animales para la determinación de la actividad diurética y la manipulación de las diferentes concentraciones de los extractos hidroalcohólicas.

Transversal: Debido a que el estudio se realizará en un determinado tiempo desde Julio a diciembre del 2018.

3.2 Diseño de investigación

El diseño de la investigación que se realizó fue de tipo experimental; es decir, se empleó para el experimento grupo experimental y grupo de control. Por otro lado, la investigación se desarrolló en un determinado año, por lo que el estudio será transversal. El diseño experimental es el siguiente:

RG = 01 X 02 RG = 03 X 04
--

Dónde:

R = Asignación al azar o aleatoriamente

G = Grupo de sujetos (ratas albinas wistar)

X = Tratamiento, estímulo o condición experimental administración del extracto hidroalcohólico de mashua

01 = Grupo BLANCO: SF

02 = Grupo CONTROL: Furosemida 20 mg/Kg

03 = Grupo Tratamiento 1: EHATT 100 mg/Kg

04 = Grupo Tratamiento 2: EHATT 250 mg/Kg

Grupo Tratamiento 3: EHATT 500 mg/Kg

La investigación es experimental ya que se trabajó con animales de experimentación y especies botánicas con actividad terapéutica.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

Para el presente estudio, se adquirieron 40 ratas albinas Wistar machos de 250 a 350 g de peso en el Instituto Nacional de Salud (INS)

Asimismo, se adquirieron 5 kilos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P (Mashua negra) proveniente de la comunidad de Patacancha provincia de Urubamba, Cuzco que pertenece a Ollantaytambo.

3.4 MUESTRA

25 ratas albinas cuyos parámetros estén dentro del criterio de inclusión.

3 kilos de tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la recolección de datos, se utilizó fichas **ad doc** elaborada donde se anotaron los datos obtenidos a través de una medición del tiempo y del volumen de la frecuencia de diuresis en ratas albinas Wistar

3.5.1 Equipos materiales y reactivos

Materiales para la elaboración del extracto hidroalcohólico

- Placas Petri de 200x15 mm BOHECO
- Tubos de ensayo 16x150 mm PIREX
- Gradilla de metal para 12 tubos HEATHROW SCIENTIFIC
- Pipetas 5 cc MARIENFELD
- Gotero Pasteur de plástico
- Frascos de boca ancha de 500 ml PIREX
- Fiolas 25 cc BOHECO
- Buretas 25 BOHECO
- Frascos goteros CMF
- Embudo de vástago chico BOHECO
- Papel filtro paso lento 3M

Equipos utilizados para la elaboración del extracto hidroalcohólico

- Equipo de filtración NEMMET
- Estufa desecadora NEMMET
- Desecador NEMMET
- Balanza analítica SARTORIUS
- Lámpara ultravioleta ZEIZZ

Solventes usados para la marcha de solubilidad

- Etanol
- Metanol
- Cloroformo
- N-Hexano
- Éter
- Acetona
- Butanol
- Agua

Reactivos usados para la marcha Fitoquímica

- Solventes (etanol 96%)
- Cloruro férrico 5%
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de Hidróxido de sodio
- Reacción de Bornträger
- Reactivo de Dragendorff.
- Reactivo de Mayer

Materiales usados para la actividad diurética

- Jaulas individuales
- Probeta
- Embudo
- Cloruro de sodio al 0.9% BAXTER
- pH metro portátil
- Furosemida 20mg/kg

3.5.2 Procedimiento experimental

La identificación taxonómica de la mashua se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, fue realizado por el Biólogo Hamilton Wilmer Beltrán Santiago, siguiendo el Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, tal como figura en el Anexo 6.

3.5.3 Extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum Tuberosum* R&P. (Mashua negra)

Se usó el Método de Olga Lock Sing de Ugaz.

- ✓ Selección
- ✓ Limpieza
- ✓ Secado trozado
- ✓ Secado
- ✓ Macerado
- ✓ Secado

3.5.4 Marcha de solubilidad. Método de Domínguez (1973)

Se colocó una pequeña cantidad de la muestra en un tubo de ensayo y se agregó 1 ml de solventes de diferentes polaridades para observar en cuál de ellos tiene mayor solubilidad el extracto etanólico. Una vez terminada la prueba se colocó los datos en la ficha de recopilación. Los contenidos de los tubos de ensayo fueron desechados en frascos de residuos de solventes orgánicos para su posterior neutralización.

Para la evaluación se realizó pruebas para metabolitos primarios y secundarios.

Tubo N°1 : 0.5 ml EHATT + 2 ml de Extracto Etanólico
Tubo N°2 : 0.5 ml EHATT + Cloroformo
Tubo N°3 : 0.5 ml EHATT + Éter
Tubo N°4 : 0.5 ml EHATT + Metanol
Tubo N°5 : 0.5 ml EHATT + Agua destilada
Tubo N°6 : 0.5 ml EHATT + Ciclohexano

3.5.5 Análisis Fitoquímico de metabolitos. Se usó el método de Domínguez (1973)

Metabolitos Primarios

Glúcidos

Se utilizó los reactivos de Fehling A y B, a la muestra se agregó 1 mL de etanol y 5 ml de los reactivos de Fehling, y se llevó a baño maría. Un precipitado anaranjado ladrillo confirmó la presencia de azúcares reductores.

Almidón

Se utilizó 2 a 3 gotas del reactivo de Lugol a la muestra. Una coloración oscura confirmó la presencia de almidón.

Cetonas

Se utilizó 1 gota del reactivo para cetonas. Un precipitado amarillo o naranja rojizo confirmó la presencia de cetonas.

Molish

Se utilizó 1 gota del reactivo de alfa naftol. Un anillo violeta, confirmó la presencia de azucares reductoras

Antrona

Se utilizó 1 gota del reactivo de antrona. Una coloración verde confirmó la presencia de monosacáridos.

Metabolitos secundarios

a) Determinación de Taninos: solución reactiva de gelatina – cloruro de sodio. A 1mL de muestra se agregó 3 gotas de reactivo, en un se centrifuga. Un precipitado de color blanco en el fondo del tubo de ensayo confirmó la presencia de taninos. (35)

Con Cloruro Férrico o Alumbre férrico. Solución reactiva de cloruro férrico. A 1mL de muestra se agregó 3 gotas de reactivo. Una coloración negra azulada en el tubo de ensayo, confirmó tanino pirogálico, una coloración verde confirmó taninos catequicos.

b) Determinación de flavonoides

Reacción de Shinoda: limadura de magnesio y ácido clorhídrico concentrado. A 1mL de muestra; se agregó 3 gotas de reactivo. Un intenso burbujeo y coloración naranja, confirmó la presencia de flavonoides.

c) Determinación de Cumarinas: solución reactiva de NaOH 10%. 1ml de la muestra se colocó en papel whatman y se agregó el reactivo y se observó con una lámpara la fluorescencia. Una coloración verde amarillenta confirmó la presencia de cumarinas. (35)

d) Determinación de Quinonas: solución reactiva de etanol e hidróxido de sodio 5%. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Una coloración verdosa, confirmó la presencia de quinonas.

Reacción de Bornträger: solución reactiva de NaOH 5% y HCl 20%. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Se añadió benceno y se separó la fase, se añadió NH_4OH . Una coloración rosada o roja, confirmó la presencia de quinonas.

e) Determinación de Alcaloides

Reactivo de Dragendorff: solución reactiva de Dragendorff. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Un precipitado naranja confirmó la presencia de alcaloides.

Reactivo de Mayer: solución reactiva de Mayer. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Un precipitado blanco o crema confirmó la presencia de alcaloides.

Bertrand: solución reactiva de ácido sílico. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Un precipitado blanco o crema confirmó la presencia de alcaloides.

Sonnenschein: solución reactiva de ácido fosfomolibdico. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Un precipitado amarillo verdoso confirmó la presencia de alcaloides.

f) Aminoácidos libres y grupos amino: solución reactiva de ninhidrina. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Una coloración violácea confirmó la presencia de alcaloides.

g) Triterpenoides y esteroides: solución reactiva de Lieberman- Burchard. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo, luego cloroformo, anhídrido acético y ácido sulfúrico. Una coloración verde azulada, confirmó la presencia de esteroides. Una coloración rojo naranja, confirmó la presencia de triterpenoides.

l) Saponinas: solución reactiva de agua destilada. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó agua. Se agito por 1 minuto. La formación de espuma x 15 minutos, confirmó la presencia de saponinas.

J) Glicósidos: solución reactiva de baljet. 1ml de la muestra, se colocó en un tubo y se agregó el reactivo. Una coloración anaranjada confirmó la presencia de glicosidos. (36)

3.5.5 Procedimiento de la actividad diurética

Para evaluar la actividad diurética; se utilizó el método de Naik y Col con modificaciones. Se utilizaron 25 ratas, con un peso promedio de 250 -350g, machos. Estos fueron mantenidos en cuarentena durante 7 días con libre disposición de alimentos y agua en condiciones de ambientación adecuadas en el bioterio de **INDACIPS PERU** “INSTITUTO DE ASESORÍA CAPACITACIÓN E INVESTIGACIÓN PROFESIONAL EN SALUD DE PERÚ”. Las ratas fueron privadas de agua y comida 18 h antes del experimento y durante el mismo.

Se realizó la separación aleatoria a los animales en diferentes grupos de trabajo

Grupo N°1: SF

Grupo N°2: Furosemida 20 mg/Kg

Grupo N°3: EHATT 100 mg/Kg

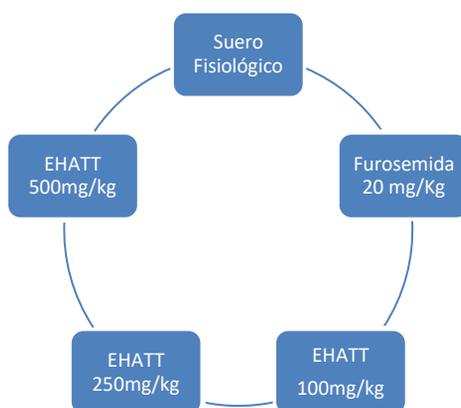
Grupo N°4: EHATT 250 mg/Kg

Grupo N°5: EHATT 500 mg/kg

GRUPO	MEDICAMENTO	CONCENTRACIÓN
1	SF	5 ml
2	Furosemida	20 mg/kg
3	EHATT	100 mg/kg
4	EHATT	250 mg/kg
5	EHATT	500 mg/kg

Se procedió a administrar los tratamientos a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) por vía oral en un volumen igual a 5 mL; al grupo control se administró solución salina en el mismo volumen de 5 mL; al grupo control positivo se administró 5 mL de solución salina por vía oral más una dosis de furosemida 20mg/Kg peso por vía intraperitoneal. Al grupo N°3 se le administro 5mL de la solución salina más una dosis del extracto hidroalcohólico al 100 mg/kg por vía oral, al grupo N°4 se le administro 5mL de la solución salina más una dosis del extracto hidroalcohólico al 250 mg/kg por vía oral, al grupo N°5 se le administro 5mL de la solución salina más una dosis del extracto hidroalcohólico *Tropaeolum tuberosum* R&P. (mashua negra) al 500 mg/kg por vía oral.

Luego de la hidratación correspondiente y la administración de los extractos, se colocó los animales en jaulas metabólicas adaptadas de forma individual para la recolección de orina, se recolectó el volumen de orina cada hora durante un periodo de 6 horas. Concluido el experimento se procedió a la eutanasia de los animales mediante anestesia con éter.



Esquemas de Procedimientos

3.6 PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS DE DATOS

La información obtenida se recopiló en los instrumentos elaborados para cada una de las variables estudiadas para la variable independiente, se utilizó la ficha de recolección de datos y para la variable dependiente. se utilizó **una ficha** ad doc para monitorizar la actividad diurética del sujeto de estudio.

Todos los datos de la investigación se ingresaron en una hoja electrónica de Microsoft Excel, Los cuales posteriormente fueron procesados con el paquete estadístico IBM SPSS, Statistics 22. Se utilizó las técnicas estadísticas para el análisis, organización y presentación de datos, tales como: promedio, mediana, desviación estándar, prueba de kolmogorov-Smirnov para verificar la normalidad de los datos.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

Tabla N°1: Marcha de solubilidad del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

SOLVENTES	RESULTADOS
Etanol	S°
Metanol	Ins°
Cloroformo	Ins°
Butanol	Ins°
N-Hexano	Ins°
Éter	Ins°
Acetona	S°
Agua	S°

Leyenda: Soluble (S°), Insoluble (I°)

Fuente: Elaboración propia, 2019.

De la prueba de solubilidad se pudo observar que el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) es soluble en solvente polar como el agua y el etanol y en acetona que es un solvente polar aprótico.

Tabla N°2: Marcha Fitoquímica extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS			
Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Reacción positiva	Resultados
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo	(+++)
Almidón	Lugol	Coloración oscura	(++)

Leyenda: Abundante (+++); Regular (++); Poco (+), Ausencia (-)

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla N°3: Marcha Fitoquímica del tubérculo del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

Metabolitos Secundarios	Resultado	Reactivo	Reacción positiva
Flavonoides	+++	Shinoda	Coloración rojiza
Fenoles	++	Cloruro Férrico	Coloración verde
Taninos	+	Gelatina	Precipitado blanco
Antocianidinas	+	Rosenhein	Rojo violeta
Saponinas	+	Agua	formación de espuma
Alcaloides	+	Reactivos generales	Precipitado naranja y blanco

LEYENDA: Abundante (+++); Regular (++); poco (+); ausencia (-)

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla 4: Actividad Diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

GRUPO N 1 BLANCO SUERO FISIOLÓGICO	VOLUMEN DE ORINA (ml) / TIEMPO					
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS	5 HORAS	6 HORAS
RATA N1 265g de peso	2.75	2.80	2.80	2.80	2.70	2.70
RATA N2 275g de peso	2.83	2.85	2.76	2.79	2.76	2.80
RATA N3 274g de peso	2.82	2.78	2.86	2.80	2.82	2.80
RATA N4 273g de peso	2.85	2.79	2.77	2.80	2.86	2.78
RATA N5 272g de peso	2.84	2.89	2.69	2.80	2.82	2.75

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Después de la administración de suero fisiológico al grupo de ratas control negativo, se aprecia, que el volumen de diuresis es alrededor de 2.80 ml a lo largo de las 6 horas de investigación.

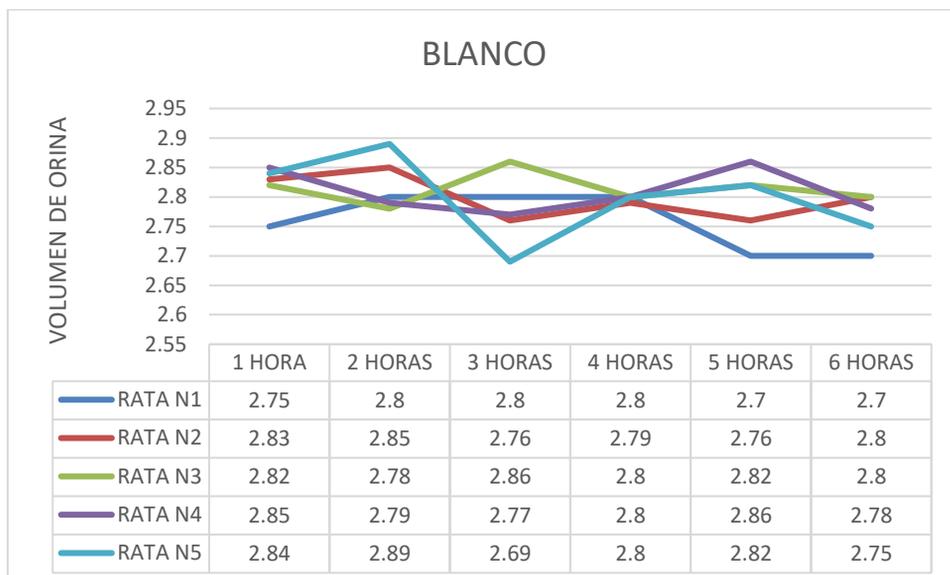


Grafico N°1: se observa el comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del control negativo (Suero Fisiológico)

Tabla 5: Actividad Diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) Furosemida 20 mg/kg

GRUPO N°2 CONTROL Furosemida 20 mg/kg	VOLUMEN DE ORINA (ml) / TIEMPO					
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS	5 HORAS	6 HORAS
RATA N1 275g de peso	6.85	7.20	7.40	7.60	7.70	7.90
RATA N2 265g de peso	6.87	6.80	6.50	6.70	6.90	7.50
RATA N3 270g de peso	6.40	6.80	6.50	6.50	6.70	7.40
RATA N4 268g de peso	6.75	6.60	6.80	6.90	7.20	7.30
RATA N5 270g de peso	6.65	7.50	7.70	7.60	7.50	7.60

Fuente: elaborado por los investigadores 2019.

Después de la administración de furosemida al grupo de ratas control positivo, se aprecia, que el volumen de diuresis es alrededor de 7.40 ml a lo largo de las 6 horas de investigación.

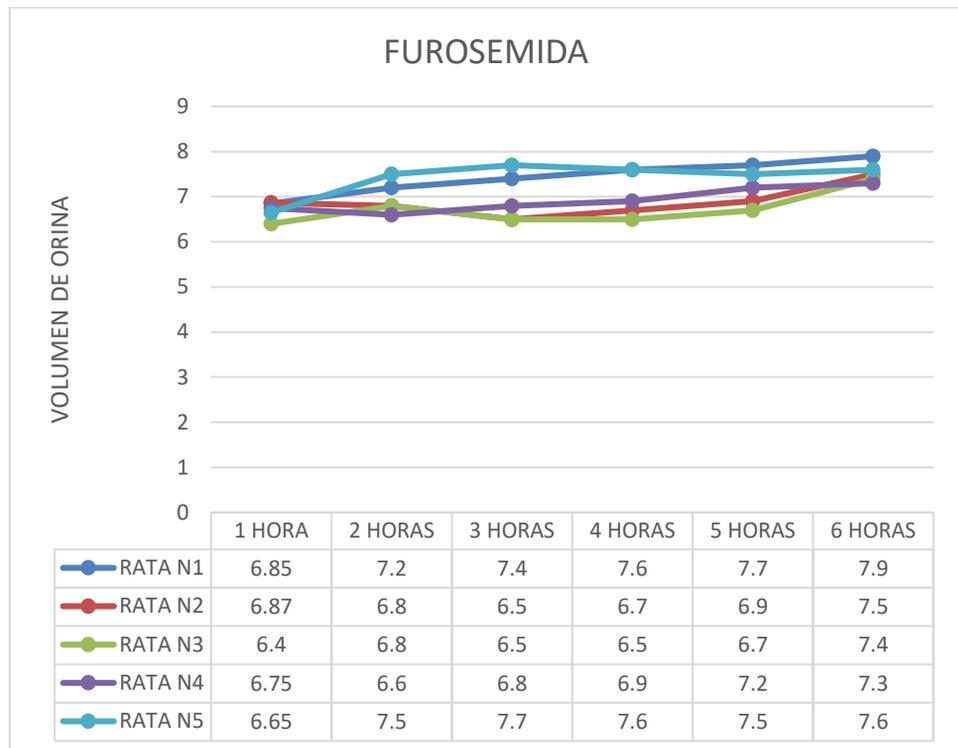


Grafico 2: se observa el comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del control negativo (Furosemida)

Tabla 6: Actividad Diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) 100 mg/kg

GRUPO N°3 MUESTRA+ 100 mg/kg	VOLUMEN DE MICCION (ml) / TIEMPO					
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS	5 HORAS	6 HORAS
RATA N1 270g de peso	2.55	2.50	2.50	2.70	2.70	2.90
RATA N2 265g de peso	2.60	2.80	2.60	2.70	2.75	2.85
RATA N3 265g de peso	2.50	2.78	2.60	2.80	2.85	2.80
RATA N4 270g de peso	2.60	2.79	2.70	2.80	2.85	2.75
RATA N5 268g de peso	2.60	2.70	2.80	2.80	2.85	2.80

Fuente: elaborado por los investigadores 2019.

Después de la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) al grupo de ratas, se aprecia, que el volumen de diuresis es alrededor de 2.80ml a lo largo de las 6 horas de investigación.

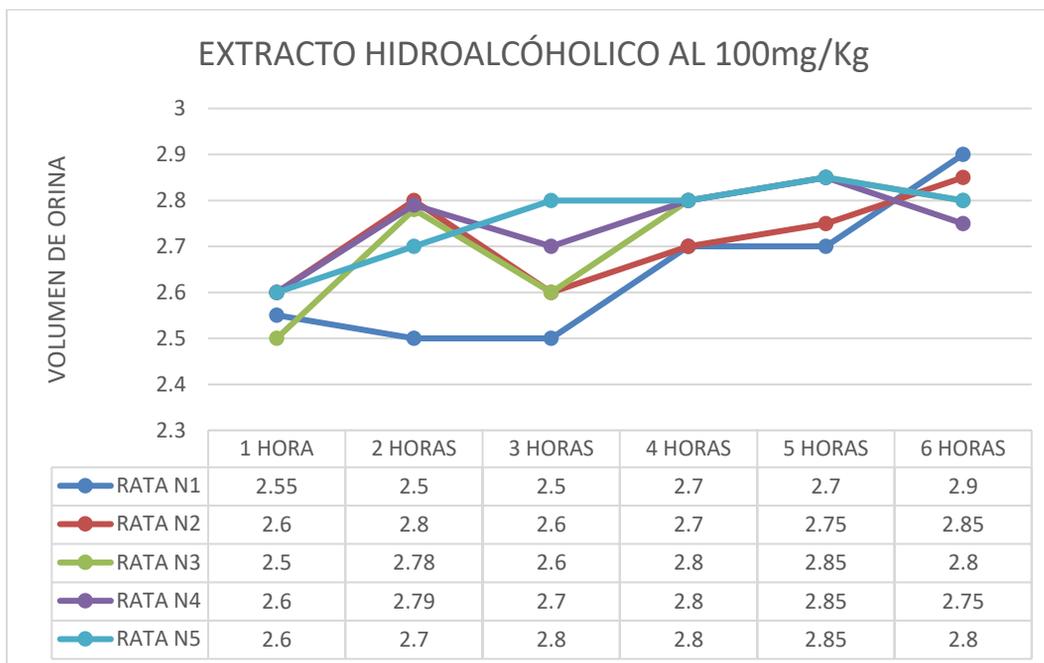


Grafico 3: se observa el comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* **R&P**. (Mashua negra.)

Tabla 7: Actividad Diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* **R&P**. (Mashua negra) 250 mg/kg

GRUPO N°4 MUESTRA+ 250 mg/kg	VOLUMEN DE ORINA (ml) / TIEMPO					
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS	5 HORAS	6 HORAS
RATA N1 260g de peso	2.70	2.80	2.90	3.00	2.90	2.80
RATA N2 270g de peso	2.80	2.80	2.80	3.00	2.80	2.70
RATA N3 270g de peso	2.80	2.90	3.10	3.10	3.00	3.10
RATA N4 270g de peso	2.70	2.80	2.90	2.90	3.00	2.90
RATA N5 268g de peso	2.80	2.80	3.00	3.00	2.80	2.80

Fuente: elaborado por los investigadores 2019.

Después de la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* **R&P**. (Mashua negra) al grupo de ratas, se aprecia, que el volumen de diuresis es alrededor de 2.90ml a lo largo de las 6 horas de investigación.

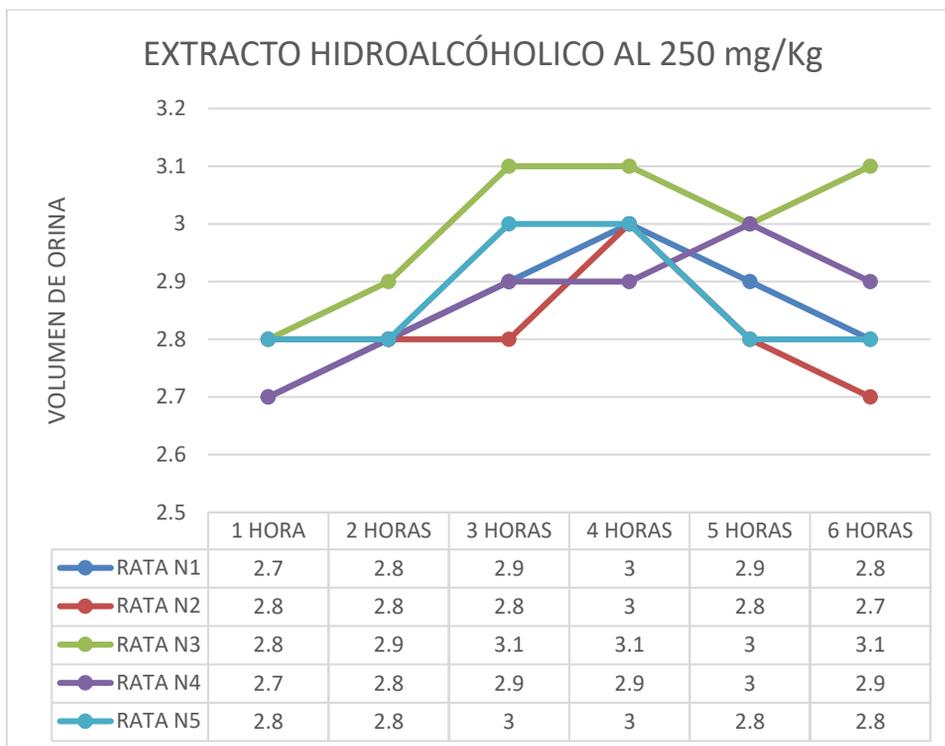


Grafico 4: se observa el comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra)

Tabla 8: Actividad Diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) 500 mg/kg

GRUPO N°4 MUESTRA+ 500 mg/kg	VOLUMEN DE ORINA (ml) / TIEMPO					
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS	5 HORAS	6 HORAS
RATA N1 270g de peso	3.10	3.40	3.80	3.40	3.40	3.20
RATA N2 278g de peso	3.50	3.60	3.40	3.30	3.20	3.20
RATA N3 278g de peso	3.70	3.80	3.70	3.80	3.40	3.30
RATA N4 278g de peso	3.40	3.40	3.50	3.60	3.50	3.40
RATA N5 270g de peso	3.40	3.50	3.70	3.60	3.50	3.40

Fuente: elaborado por los investigadores 2019.

Después de la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum*. R&P. (Mashua negra) al grupo de ratas, se aprecia, que volumen de diuresis es alrededor de 3.50ml a lo largo de las 6 horas de investigación.

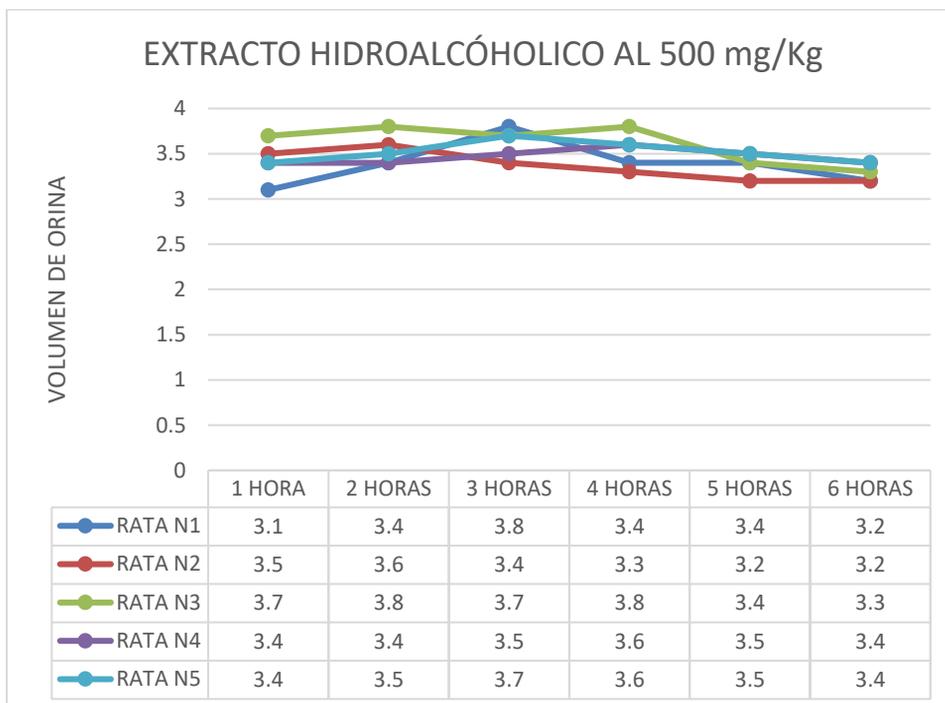


Grafico N°5: se observa el comportamiento de diuresis en los diferentes grupos de ratas tras la administración del extracto hidroalcohólico de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* **R&P**. (Mashua negra).

4.2 Contrastación de hipótesis

Hipótesis General

H0= El extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* **R&P** (Mashua negra) no presenta actividad diurética en ratas albinas

H1= El extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* **R&P** (Mashua negra) si presenta actividad diurética en ratas albinas

ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Factor	40,425	7	8,721	1791,333	,002
Error	,160	38	,005		
Total	40,585	45			

Como el p-valor es menor que 0.05 se puede afirmar que el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum*. **R&P** (Mashua negra) si presenta actividad diurética. Por lo tanto, se descarta la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1)

Hipótesis Específica 1

H0= Los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) no son los responsables de la actividad diurética en ratas albinas

H1= Los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) si son los responsables de la actividad diurética en ratas albinas

Hipótesis Específica 2

H0= No Existe una concentración óptima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas

H1= Si Existe una concentración optima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas.

ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Factor	42,500	7	7,500	1551,000	,001
Error	,150	38	,005		
Total	42,650	45			

Como el p-valor es menor que 0.05 se puede afirmar que las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum*. R&P (Mashua negra) si afecta el volumen de orina al ser experimentado en ratas albinas. Por lo tanto, se descarta la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1)

Hipótesis Específica 3

H0= La actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) no es mayor respecto a la furosemida en ratas albinas

H1= La actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) si es mayor respecto a la furosemida en ratas albinas

ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Factor	12500,123	3	19,345	21551,785	1,05
Error	1,230	12	1,30		
Total	12501,353	15			

Como el p-valor es mayor que 0.05 se puede afirmar que el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum*. R&P (Mashua negra) no supera la actividad diurética de la furosemida, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

4.2 Discusión

Al desarrollar la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P., (Mashua negra), se observó que la muestra es soluble en solventes polares etanol, y agua, pero también en acetona que es un solvente apolar, tabla N°1. Este proceso fue mencionado por la Dra. Olga Lock de Ugáz en su Libro Investigación Fitoquímica. En la Tabla N°2, se reportó que los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P., (“Mashua negra”), fueron flavonoides, fenoles, taninos, antocianidinas, saponinas, alcaloides. Estos metabolitos encontrados se asemejan a los hallados por (Pacco W; Inostrosa L; Flores N) quienes al estudiar a la misma especie encontraron compuestos flavónicos y fenólicos.

AL determinar si la concentración del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P., (Mashua negra) posee actividad diurética, se determinó que las concentraciones al 100 mg/kg, 250 mg/kg y 500mg/kg, poseen actividad diurética, esto fue confirmado mediante la estadística descriptiva la cual arrojó un $p < 0.05$ en las diferentes concentraciones con lo cual se afirma que sí posee actividad diurética. Estos resultados pueden compararse con los hallados por Ramírez J. y Mauricio O. (2006) quienes estudiaron la actividad diurética de la **Salvia scutellarioides** encontrando a 1000 y 2000 mg/kg actividad diurética, al estudio de Duaud (2007) quien evaluó la actividad de la queñoa a 200 y 400mg/kg reportando diuresis sostenibles y los estudios de Morales V. (2015) quien evaluó la actividad diurética de los frutos de *Parmentiera aculata* bajo el mismo modelo experimental, encontrando capacidad diurética y volúmenes cuantificados de 33, 36, 34 ml.

Al comparar con el control positivo (furosemida), el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra), alcanzó un volumen de diuresis bajo.

Los resultados difieren a los hallados por Alvis a. (2013) quien realizó el efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* Hook y Bastidas F. (2016), quien evaluó el efecto diurético de las hojas de maytenus macrocarpa “Chuchuhuasi” encontrando que sus concentraciones si presentaron efecto diurético superior al control.

Después de evaluar los resultados y realizar el análisis respectivo, el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) si presenta actividad diurética en ratas albinas

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1.- Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) identificados son flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, antocianidinas, saponinas y alcaloides siendo los posibles responsables de la actividad diurética en ratas albinas

2.- El extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) a la dosis de 500 mg/kg presenta mayor actividad diurética en ratas albinas.

3.- Al comparar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) respecto a la furosemida, se determinó que la furosemida posee mayor efecto diurético en ratas albinas.

5.2 Recomendaciones

- 1.- Aislar los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P., (Mashua negra) y determinar quién tiene la actividad diurética.
- 2.- Realizar estudios complementarios que permitan evaluar la actividad diurética en función a los niveles de electrolitos eliminados.
- 3.- Evaluar la actividad diurética de otro órgano de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (Mashua negra) en modelos experimentales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Espín, J. y Tomás-Barberán, F. Alimentos Funcionales. Fundación Española para la Ciencia y Tecnología. 2010.
- 2.- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower JR, Henderson G, Rang y Dale Pharmacology, 7 edición, Madrid, Elsevier, 2011.
- 3.- Alarco de Zandra A. Perú, el libro de las plantas mágicas. Concytec, Lima. (2009)
- 4.- Zampini, I.C. Potencialidades fitoterapéuticas de dos especies de Baccharis de la Puna de Atacama – Argentina. Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Instituto de Estudios Vegetales. 2015. Disponible en: <http://www.cori.unicamp.br/jornadas/completos/UNT/PNBA%2>
- 5.- Ramírez J. Mauricio O. Efecto diurético de la especie Salvia scutellarioides en ratas Jorge Hernán Ramírez, Mauricio Palacios, Oscar Gutiérrez Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia Biomédica 2006. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/843/84326117.pdf>
- 6.- Noriega A. Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales Citrus reticulata (mandarina), Citrus paradisi (toronja) y Citrus aurantifolia (Lima). Universidad de San Carlos de Guatemala facultad de ciencias Químicas y farmacia. 2015. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3707.pdf
- 7.- Puig M. Evaluación de la actividad diurética de la mezcla hidroalcohólicas de la matricaria chamomilla y urtica urens. Para optar al título de química y farmacéutica Universidad de Guayaquil. 2015. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/9056>
- 8.- Martínez S. et al. Evaluación diurética del producto natural Noni-C (Morinda citrifolia L.) En un modelo experimental en ratas. Rev. Cubana Plant Med vol.17 no.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. 2012. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028

- 9.- Daud A. et al. Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). *Rev Cubana Plant Med* v.12 n.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. 2007. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028
- 10.- Felipe G. Efecto diurético de los extractos acuosos y secos de *Caesalpinia Bahamensis* Lam (brasilete) en ratas wistar *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3(2).2011. Disponible en: [https://www.google.com.pe/search?q=Felipe+G.+\(2011\)](https://www.google.com.pe/search?q=Felipe+G.+(2011))
- 11.- Alviz A. Salas R., Franco L. Efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) en ratas normales. Vol. 33, Núm. 1; (2013). Disponible en: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i1.611>
- 12.- Cañas J. Determinación del efecto antinefrolitiasico y diurético de la *Manicaria Saccifera*. tesis presentada para optar al título de magister en Ciencias Básicas Médicas. Universidad del Valle Facultad de Salud; 2011. Disponible en: <http://bibliotecadigital.Univalle.edu.com>
- 13.- Morales V. Evaluación del efecto antiurolítico del fruto de *Parmentiera aculeata* en rata Wistar. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. *Botanical Sciences* 93 (2): 1-6, 2015. Disponible en: <http://www.botanicalsciences.com.mx>
- 14.- Bernal, M. Comprobación de la actividad diurética de una flavona aislada del extracto acuoso de *Boldoa Purpurascens* (Nitro Blanco) Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas; 2006. Disponible en: <http://hdl.handle.net/123456789/705>
- 15.- Pacco W. "Evaluación del efecto del soleado y la cocción en la capacidad antioxidante del puré deshidratado de mashua (*tropaeolum tuberosum* r. et p.) Tesis para optar el título profesional de: Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial 2015.

16.- Surco F. Caracterización de almidones aislados de tubérculos andinos: mashua (*Tropaeolum tuberosum*), oca (*Oxalis tuberosa*), olluco (*Ullucus tuberosum*) para su aplicación tecnológica. Tesis para obtener el grado de magister en Ciencias de los alimentos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.2004. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2588>

17.- Flores N. evaluación de la aceptabilidad organoléptica y capacidad antioxidante de una bebida alcohólica no fermentada, formulado con extracto fenólico de mashua (*tropaeolum- tuberosum*) púrpura. para optar el título profesional de: ingeniera en industrias alimentarias. Universidad nacional del centro del Perú. 2015. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1295>

18.- Inostrosa L. actividad antioxidante de *tropaeolum tuberosum*. Ruiz & pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur. Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2015

19.- Efecto de *tropaeolum tuberosum* frente a la hiperplasia prostática benigna inducida en ratas holtzman. Ciencia e Investigación Médico Estudiantil Latinoamericana (CIMEL)Vol. 18 Núm. 1. 2013

20.- Quispe N. Blacido J. Actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de los tubérculos de *ullucus tuberosum* caldas “olluco” en animales de experimentación. tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico, Universidad Wiener, 2018.

21.- Uribe Pinta, Elizabeth Actividad antioxidante del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón mashua negra. para optar el título profesional de químico farmacéutico, Universidad alas peruanas 2016.

22.-Bastidas F. Efecto diurético de las hojas de Maytenus Macrocarpa "Chuchuhuasi" en ratas albinas. Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres. Vol. 21 Núm. 1. 2016. Disponible en: <https://www.cimel.felsocem.ne>

23.-Castillo S. "Efecto diurético de Phyllanthus niruri "chanca piedra" y niveles de excreción de sodio en Rattus rattus varo albinus". Universidad Nacional de Trujillo 2011. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6181485.pdf>

24.- Apesteuguía J. Efecto diurético del zumo del fruto del limón (Citrus limón L.) en ratas de experimentación para optar al grado académico de Magíster en Farmacología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2009. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/228>

25.- Oré de la Paz, Joel Junior "Efecto diurético y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de Aeonium Arboreum (l). Webb. & Berth. "Rosa Verde" en cavia porcel/us "cobayo". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico. Ayacucho -Perú 2015. Disponible en: <https://www.google.com.pe/search?q=Efecto+diurético+y+dosaje>

26.- Martínez Gómez, Edwin "Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de Physalis Peruviana l. "Aguaymanto". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga tesis para obtener el título profesional de: químico farmacéutico Ayacucho-Perú 2015. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/unsch/1155>

27.- Rita Ramírez Candía. Efecto hipotensor in vivo del extracto seco acuoso de las partes aéreas de Urtica Magellanica (Ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME y determinación de la toxicidad aguda. Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2013. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/unsaac/927>.

28.- Francisco Javier María Ramírez Cruz "Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas para optar el grado de Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica. Unidad de postgrado 2010. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/240>

29.-López Cabanillas R. Actividad antiulcerosa del extracto etanólico de propóleo ayacuchano en ratas. Revista peruana de medicina experimental y salud pública. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú Vol 34 (4) 2017. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2730>

30 Barrera, V., Tapia, C., & Monteros, A. (2003). Raíces y tubérculos andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuarias INIAP. Quito (Ecuador) Lima (Perú). Retrieved from <http://www.iniap-ecuador.gob.ec>.

31.- Salas, F. Procesamiento de raíces y tubérculos andinos: Fascículos. Centro Internacional de la Papa (CIP) pp. 14-17. 2013

32.- Tapia, M. Los Tubérculos andinos. En: Avances en las investigaciones sobre tubérculos alimenticios de los andes. Lima, Perú. PISCA-IICA- CIID. PP.45 2013.

33.- Manrique J. Efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* "diente de león". [Tesis de pregrado]. Ayacucho. UNSCH; 2005.

34.- Goodman y Gilman. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica" Editorial Mc Graw Hill pág. 56 12va Edición 2010

35.- Miranda, M.; Cuéllar, A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Ciudad de la Habana, Cuba.2010

36.- Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2ª Edición. Acribia, Zaragoza.2010.

ANEXOS

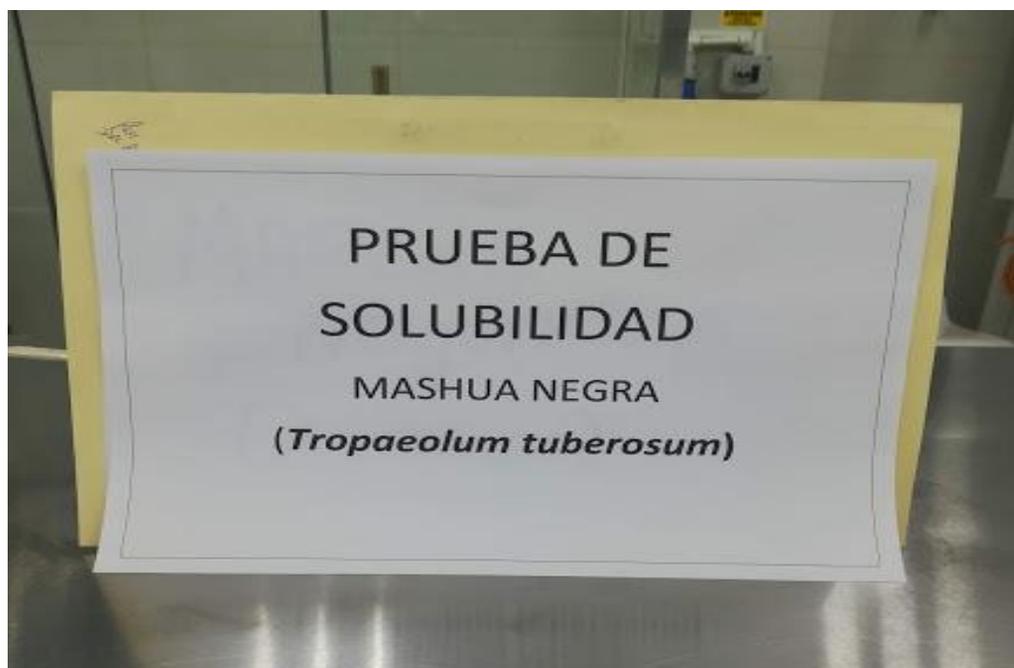
1. Secado de la especie vegetal



2.- Obtención del extracto

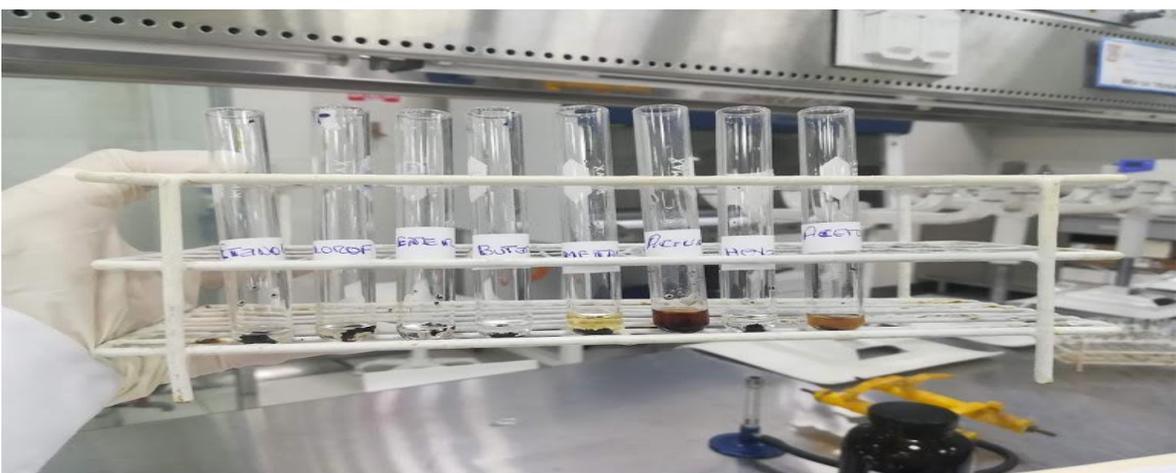


3.- Prueba de solubilidad





4.- Reactivos utilizados en prueba de Solubilidad



5.- Marcha Fitoquímica



6.- Actividad diurética



7.- Administración del Extracto Hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P. (mashua negra) en ratas albinas.



8.- Control de Volúmen de orina en ratas albinas



9.- Certificado de la especie botánica en estudio

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "MASHUA NEGRA" proporcionada por; KAREN ELIZABETH CORDOVA MARCELO y JHON EVER INGA YNCA, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Tropaeolum tuberosum* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Geraniales
Familia: Tropaeolaceae
Género: *Tropaeolum*
Especie: *Tropaeolum tuberosum* R. & P.

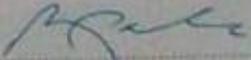
Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 Julio 2018


Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltran Santiago
Biologo - Botánico
CBP 2719

10.- Certificado del bioterio de adquisición de ratas

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO Nº		202-2018	
Producto	Rata Albina	Lote Nº	R - 07- 2018
Especie	<i>Rattus norvegicus</i>	Cantidad	06
Cepa	Holtzman	Edad	2.5 meses
Peso	200-250 g.	Sexo	macho
G.R.	036139	Destino	Universidad Inca Garcilaso de la Vega.
Lima	20-07-2018		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia: PR T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 20 de julio del 2018 (Fecha de atención y emisión del certificado)</p> <p style="text-align: right;"> M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586</p> <p>NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>			

11.- Matriz de Consistencia

Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R&P (Mashua negra) en ratas albinas.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INTRUMENTOS
					observacional	
¿Qué actividad diurética presenta el extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) en ratas albinas?	Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) en ratas albinas.	El extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) presenta actividad diurética en ratas albinas	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	TIPO	Ficha de recolección de datos ficha ad doc Técnica: Actividad Diurética Técnicas estadísticas: Anova
			Extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra)	Tamizaje Fitoquímico Farmacológico	Transversal Experimental cuantitativo.	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	
¿Qué metabolitos secundarios presentará en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra) responsables de la actividad diurética en ratas albinas?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas.	1.- Los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P (Mashua negra) son los responsables de la actividad diurética en ratas albinas	Actividad diurética	Volúmen de orina. Frecuencia de micciones.	Básico	
¿Cuál será la concentración óptima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas?	Determinar la concentración óptima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P. (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas.	Existe una concentración óptima del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P (Mashua negra), con mayor actividad diurética en ratas albinas			DISEÑO	
¿Cuál será la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P (Mashua negra) respecto a la furosemida en ratas albinas?	Comparar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P (Mashua negra) respecto a la furosemida en ratas albinas	La actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R&P (Mashua negra) es mayor respecto a la furosemida en ratas albinas			El diseño de la investigación que se realizará será de tipo experimental; es decir, se empleará para el experimento grupo experimental y grupo de control. Por otro lado, la investigación se desarrollará en un determinado año, por lo que el estudio será longitudinal.	