

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

EFFECTO DIURÉTICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Baccharis chilco* Kunth (Taya), EN RATAS ALBINAS

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico**

TESISTAS:

Bachiller: Silva Vega, Flor Rosario

Bachiller: Luicho Solórzano, Judith

ASESOR:

Mg. Cano Perez Carlos A.

Lima – Perú

2019

TÍTULO:

***EFFECTO DIURÉTICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS
DE *Baccharis chilco* Kunth (Taya) EN RATAS ALBINAS***

DEDICATORIA

A Dios por estar siempre a mi lado protegiendo mis pasos y siendo fuente de fortaleza para continuar en la búsqueda de mis objetivos.

A mis padres, por estar siempre a mi lado buscando mi bienestar y desarrollo personal, por su confianza y respaldo en cada reto que se me presentó.

Flor y Judith

AGRADECIMIENTO

A mi familia por sus expresiones de afecto y por respaldarme en el logro de mi vida académica. A mi alma máter, la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, a mis distinguidos docentes mi gratitud por haberme dado la oportunidad de haberme desarrollado profesionalmente.

Flor y Judith

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	
Índice de Anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
 CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1 Descripción de la realidad problemática	3
1.2 Formulación del problema	4
1.2.1 Problema general	4
1.2.2 Problemas específicos	4
1.3 Objetivos	5
1.3.1 Objetivo General	5
1.3.2 Objetivos Específicos	5
1.4 Justificación e importancia del estudio	5
 CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes del estudio	8
2.1.1 Nacionales	8
2.1.2 Internacionales	11
2.2 Bases teóricas	13
2.2.1 Taya	13
2.2.1.1 Descripción botánica	13
2.2.1.2 Clasificación taxonómica	15
2.2.1.3 Distribución	15
2.2.1.4 Propiedades y usos medicinales	16
2.2.1.5 Composición química	16
2.2.2 Farmacología renal	18
2.2.2.1 Regulación de la presión arterial	19
2.2.2.2 Función renal en la enfermedad	20
2.3 Hipótesis	24
2.3.1 Hipótesis general	24
2.3.2 Hipótesis específicas	24

2.4	Variables	25
2.4.1	Tabla de Operacionalización de Variables	25
2.5	Marco conceptual	25
 CAPÍTULO III: MÉTODO		
3.1	Tipo de estudio	28
3.2	Diseño a utilizar	29
3.3	Población	29
3.4	Muestra	29
3.5	Técnicas e instrumento de recolección de datos	29
3.5.1.	Técnica	29
3.5.2	Equipos materiales y reactivos	32
3.3	Procedimiento experimental	34
3.6	Procesamiento de Datos	46
 CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN DE ANÁLISIS DE RESULTADOS		
4.1	Presentación de resultados	47
4.1.1	Resultado de la prueba de solubilidad	47
4.1.2.	Resultados de la marcha fitoquímica	48
4.1.3	Resultados de Toxicidad Aguda Oral	49
4.1.4	Resultados de la actividad diurética	50
4.2	Contrastación de hipótesis	52
4.3	Discusión de resultados	58
 CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		
5.1	Conclusiones	60
5.2	Recomendaciones	61
 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		62
ANEXOS		65

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1	Tratamiento de Toxicidad Aguda Oral <i>Baccharis Chilco</i> Kunth (Taya)	42
TABLA 2	Tratamiento de Actividad Diurética <i>Baccharis Chilco</i> Kunth (Taya)	43
TABLA 3	Resultados de la Prueba de Solubilidad	45
TABLA 4	Resultados de la Marcha Fitoquímica	46
TABLA 5	Resultados de la Toxicidad Aguda Oral <i>Baccharis Chilco</i> Kunth (Taya)	47
TABLA 6	Resultados de Actividad Diurética	48
TABLA 7	Resultados concentración de electrolitos, Na y K	49
TABLA 8	Análisis de Varianza (Anova)	51
TABLA 9	Estadístico de Tukey	52
TABLA 10	T-Student de extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis Chilco</i> Kunth (Taya) dosis 500 mg/Kg	53
TABLA 11	T-Student de extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis Chilco</i> Kunth (Taya) dosis 1000 mg/Kg	54
TABLA 12	T-Student de extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis Chilco</i> Kunth (Taya) dosis 1 muestra	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Presentación botánica del género Baccharis	13
Figura 2	Estructura química de la furosemida	22
Figura 3	Prueba de Solubilidad	34
Figura 4	Reactivos usados en la marcha Fitoquímica	34
Figura 5	Proceso de la marcha fitoquímica	37
Figura 6	Realización de Cromatografía en capa fina para Flavonoides	38
Figura 7	Prueba de espectrofotometría UV VIS para Flavonoides Totales	39
Figura 8	Recolección de la orina de las ratas	43
Figura 9	Prueba de Normalidad de Anderson Darling	53
Figura 10	Grafica de Porcentaje	55

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia	65
Anexo 2. Testimonio fotográfico	67
Anexo 3. Constancia de la taxonomía de la planta	75
Anexo 4. Certificado de las Ratas Albinas de la cepa Holtzman	76

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo general evaluar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth, (Taya) tiene efecto diurético. El estudio responde a un diseño experimental. Para la realización del ensayo se utilizó 3 kilogramos de hojas de *Baccharis chilco* Kunth, (Taya), de los que se elaboró el extracto hidroalcohólico para las pruebas de Screening fitoquímico, cromatografía en capa fina, flavonoides totales por espectrofotometría UV-VIS y prueba de Solubilidad. El procedimiento comprendió la utilización de 5 grupos de 5 ratas albinas de cepa Holtzman, un grupo para control negativo, grupo para control positivo con furosemida y 3 grupos para la administración por vía oral del extracto hidroalcohólico de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) en dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg. Para conocer la toxicidad aguda se utilizó el protocolo establecido por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos en ratas albinas. Resultados: la actividad diurética del extracto hidroalcohólico es significativa con respecto al control en las concentraciones de 500 y 1000 mg/kg de peso corporal y de inicio lento en comparación con el medicamento de furosemida. Conclusión: se determinó que el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) afecta significativamente en el peso corporal de las ratas albinas.

Palabras clave: Efecto diurético; extracto hidroalcohólico; *Baccharis chilco* Kunth, (Taya.)

ABSTRACT

. The general objective of the research was to evaluate if the hydroalcoholic extract of the leaves of *Baccharis chilco* Kunth, (taya) has a diuretic effect. The study responds to an experimental design. To carry out the test, 3 kilograms of *Baccharis chilco* Kunth leaves (taya) were used, from which the hydroalcoholic extract was elaborated for phytochemical Screening tests, thin layer chromatography, total flavonoids by UV-VIS spectrophotometry and test Solubility. The procedure included the use of 5 groups of 5 albino rats of Holtzman strain, one group for negative control, group for positive control with furosemide and 3 groups for the oral administration of the hydroalcoholic extract in doses of 250,500 and 1000 mg / kg. To know the acute toxicity, the protocol established by the Organization for Economic Co-operation and Development in albino rats was used. Results: the diuretic activity of the hydroalcoholic extract is significant with respect to the control in the concentrations of 500 and 1000 mg / kg of corporal weight and of slow start in comparison with the medicine of furosemide. Conclusion: it was determined that the diuretic effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Baccharis chilco* Kunth (taya) significantly affects the body weight of albino rats.

Keywords: Diuretic effect; hydroalcoholic extract; taya *Baccharis chilco* Kunth.

INTRODUCCIÓN

La práctica de la medicina tradicional a partir del uso de plantas medicinales para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades, es muy extendida en nuestro país que además es de uso ancestral, transmitida de generación en generación, conocimiento que requiere ser investigadas a fin de que se pueda conocer fehacientemente las propiedades y principios activos que estas poseen. Además, estas plantas forman parte de la abundante biodiversidad que posee el Perú.

La investigación de los diuréticos tiene importancia para su aplicación en las terapias, ya que estos se encargan de inhibir la reabsorción del sodio, elucidando el mecanismo del transporte de la sal en los riñones ⁽¹⁾.

Asimismo, el riñón cumple una función vital durante el proceso de homeostasis del compartimento extracelular ⁽²⁾.

El mal funcionamiento de estos procesos son asociados a la enfermedad de la hipertensión arterial, su prevalencia es muy extendida, de ese modo se indica que uno de cada cuatro peruanos mayores de 40 años tiene hipertensión arterial, y entre el 50 y 60 por ciento de jóvenes y adultos que lo padecen desconocen su diagnóstico y que este mal puede ocasionar ataques cardíacos, derrames cerebrales y hasta la muerte.

En esta orientación los diuréticos son los medicamentos que aumentan la producción de orina. Esta propiedad es útil en diversas condiciones patológicas de sobrecarga de fluido. Además los diuréticos actualmente disponibles tienen muchos efectos adversos. ⁽³⁾

Las investigaciones sobre las propiedades curativas y principios activos de las plantas son producto de la incursión de la química orgánica, bioquímica y otras ciencias similares, con ayuda de otras logran desarrollar la investigación científica en esta área. ⁽⁴⁾

En este contexto resulta conveniente corroborar y ampliar el conocimiento sobre algunas especies vegetales de uso tradicional, afín de buscar alternativas de tratamiento o complementar la oferta farmacológica a este tipo de enfermedades

En tal sentido, la presente investigación se sustenta en la siguiente interrogante
¿Tendrá efecto diurético el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya)?

CAPÍTULO I:

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Alrededor del 10% de la población mundial padece de alguna enfermedad renal crónica (ERC), sumado a esto se encuentra el porcentaje de enfermos con ERC oculta o sin diagnosticar, incluyendo también a personas que padecen de patologías crónicas como la diabetes mellitus DM, así como la Hipertensión arterial (HTA), pudiendo agravarse hasta causar daño renal ⁽⁵⁾.

La enfermedad hipertensiva, asociada a la enfermedad renal crónica, se ha vuelto una de las más peligrosas para la sociedad. El número de quienes la padecen es muy alto, esto significa un gran riesgo, incluso hasta la muerte. Cabe señalar que, en los últimos veinticinco años, la prevalencia de enfermedades aumentó en un 60%⁽⁵⁾.

Esta problemática de la insuficiencia renal persiste, a pesar de la presencia de nuevos medicamentos, que significan una buena alternativa ante la hipertensivas y así prevenir enfermedades cardiovasculares. Estos forman parte de uno de los tipos de fármacos más importantes durante el tratamiento inicial de la hipertensión arterial esencial ⁽⁶⁾.

Una alternativa al uso de dichos medicamentos es la que ofrece la medicina tradicional, con sus plantas diuréticas. Dado que el empleo tradicional de plantas con este fin está muy arraigado al medio ambiente, también representa una excelente alternativa de tratamiento de enfermedades renales e hipertensivas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) consciente de la importancia del rol que desempeña el uso de plantas medicinales en la Atención Primaria de Salud, recomienda el estudio integral de los recursos vegetales de uso medicinal a fin de incorporarlos en la política nacional de salud de cada país miembro ⁽⁷⁾.

En este sentido, dado que nuestro país es fuente inagotable de recursos vegetales, tenemos la gran responsabilidad del estudio intensivo de sus recursos vegetales.

Muchas especies del género *Baccharis* se usan tradicionalmente en todo el mundo por sus innumerables propiedades terapéuticas, entre las que se destaca la diurética. En el Perú abunda la especie *Baccharis chilco* que, por extensión química taxonómica podría ofrecer las mismas propiedades terapéuticas que sus congéneres.

Debido a que esta especie no ha sido objeto de estudios científicos que demuestren y garanticen su efectividad terapéutica o le den cierto margen de seguridad para evitar riesgos toxicológicos, y en aras de contribuir a la búsqueda de alternativas terapéuticas, se evaluará el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) en un modelo experimental en forma comparativa con un diurético de referencia, furosemida, seguido de una evaluación de la toxicidad aguda oral sobre ratas albinas.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 PROBLEMA GENERAL

¿Tendrá efecto diurético el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) en ratas albinas?

1.2.2 PROBLEMAS ESPECÍFICOS

1. ¿Cuáles son las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) como posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas?
2. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) con mayor efecto diurético en ratas albinas?

3. ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) tendrá mayor efecto diurético respecto a la furosemida en ratas albinas?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) tiene efecto diurético en ratas albinas.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) como posibles responsables de efecto diurético en ratas albinas.
2. Determinar la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) con mayor efecto diurético en ratas albinas.
3. Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) respecto a la furosemida en ratas albinas.

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Existen muchos factores por los que los órganos dejan de funcionar o su funcionamiento es insuficiente, uno de ellos es el desgaste natural del organismo: envejecimiento, disfunciones genéticas, consumo prolongado de medicamentos, enfermedades, estilo de vida, alimentación. Los riñones son órganos vitales que ejercen dos funciones: excretora y endocrina, siendo los encargados de filtrar y eliminar toxinas perjudiciales para el organismo como: urea, creatinina, fósforo, potasio a través de la orina, así como conservar nutrientes como las proteínas. Sin embargo, cuando esta función no se

desarrolla adecuadamente, ocasiona la retención de líquidos, alta presión arterial, etc. ⁽⁸⁾

El uso de fármacos con fines diuréticos (cuyo actividad medicinal comprende en disminuir la reabsorción de sodio y aumentar la excreción urinaria) en pacientes con daño renal o insuficiencia renal crónica producen toxicidad clínica; que generalmente, se pone de manifiesto en tratamientos de uso prolongado. Por otro lado, gran parte de la población que sufren estas patologías tienen un nivel sociocultural y económico que no les permite acceder al uso de estos fármacos.

Los pacientes con daño renal o insuficiencia renal crónica son tratados con diuréticos, que son los encargados de la eliminación de líquidos acumulados en el espacio extracelular, aumentando el volumen de excreción urinario por unidad de tiempo, pero en muchas ocasiones viene acompañado con pérdida de sal y agua, por consiguiente, con reducción del contenido de electrolitos de sodio en el organismo, puesto que los diuréticos son considerados como los promotores en la pérdida de sodio por el túbulo renal.⁽⁹⁾

Este estudio tiene utilidad porque a partir de los resultados encontrados, otros investigadores pueden complementar y ampliar los conocimientos referentes a esta especie. Las plantas medicinales forman parte de una línea de investigación farmacológica, eso promueve mayor investigación para encontrar nuevas moléculas útiles para el tratamiento de patologías.

Es de suma importancia desarrollar estudios referentes a aprovechar los metabolitos secundarios de esta planta, así se le dará un carácter científico a la medicina tradicional. Cabe señalar que, existen más plantas que necesitan ser estudiadas, ya que, todavía no han sido certificadas.

La necesidad de proporcionar información sobre la eficacia terapéutica presente en los extractos hidroalcohólicos de las plantas conlleva a desarrollar la presente investigación, y plantear una alternativa natural a fin

de conocer sobre los beneficios que presentan extractos naturales, cuya composición nos ofrece múltiples beneficios, enfocándonos principalmente en el diurético.

CAPÍTULO II:

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.1.1. NACIONALES

Rojas (2009) ⁽¹⁰⁾ evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* “yana taya”, cuyas muestras procedieron del distrito de Quinua, Ayacucho, Perú. Luego de la identificación fitoquímica de la planta se midió el efecto antiinflamatorio mediante el método del edema plantar inducido por carragenina y la bioactividad mediante el bioensayo en *Artemia salina*. De los resultados se desprende que el extracto hidroalcohólico contiene compuestos fenólicos, flavonoides, compuestos triterpénicos y/o esteroides, azúcares reductores, lactonas y/o cumarinas, glucósidos cardiotónicos, flavonoides, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos y grupos aminos libres. Corroborándose, además el efecto antiinflamatorio, ya que en todos los tratamientos se observó inhibición de la inflamación y se comprobó la existencia de la bioactividad.

Flores (2010) ⁽¹¹⁾ evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. “quimsacuchu”, en ratones albinos. La muestra fue recolectada en el distrito de Quinua, Ayacucho, Perú. Los animales de 23 - 24 g de peso, fueron separados en cinco grupos y tratados con geles al 0,5; 1 y 2% del extracto hidroalcohólico y se compararon los resultados con el grupo control (gel) y con el grupo tratado con un estándar (Dermaclin Plus®). El tamizaje fitoquímico reportó la presencia de taninos, fenoles, flavonoides, catequinas, terpenoides, azúcares reductores, principios amargos, lactonas y cumarinas. Los volúmenes promedio de tensión de los geles al 0,5; 1 y 2% del extracto hidroalcohólico fueron 31,1; 38,2 y 44,42 mL, respectivamente. Se observó que todos los volúmenes de tensión de los extractos son mayores respecto al grupo control, lo que significa que el extracto posee efecto cicatrizante.

A mayor concentración del extracto aumenta el volumen de tensión demostrando diferencia significativa frente a los tratamientos ($p < 0.05$). Los porcentajes de actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico fueron: al 0,5%, de 22,89%; al 1%, de 50,96% y al 2%, de 75,12%; el tratamiento de 2% (75,12%) presentó mayor actividad cicatrizante que difiere significativamente con el estándar y con el extracto de 0,5% y 1%; pero el tratamiento de 0,5% (22,89%) posee similar comportamiento que el estándar (21,30%) ($p < 0.05$). Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. “quimsacuchu”, presenta efecto cicatrizante.

Justil et al. ⁽¹²⁾ **(2010)**, su investigación se titula “actividad de extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas”. Su objetivo fue determinar la eficacia quimio protectora del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis genistelloides* (EEBG) en el cáncer de colon inducido por 1,2 – dimetilhidracina (DMH) en ratas machos. La muestra de este estudio corresponde a una carqueja recolectada en Huancayo, Junín y ratas machos de 145 +/- 15 g, los cuales fueron inducidos a tumores intestinales, por medio de inyección subcutánea semanal de DMH, a lo largo de veintidós semanas, a 20 mg/Kg. Luego, se conformaron seis grupos: Grupo 1 suero fisiológico; Grupo 2, 100 mg/Kg EEBG; Grupo 3 DMH; Grupo 4 DMH más 100 mg/Kg de EEBG; Grupo 5 DMH más 250 mg/Kg de EEBG; y, Grupo 6 DMH más 500 mg/Kg de EEBG. Por último, se obtuvo muestra de sangre para determinar el nivel de malondialdehído y óxido nítrico. El estudio histopatológico evidenció que la quimio protección de los grupos, en los que se aplicó el tratamiento con EEBG, frente al grupo que no recibió tratamiento, demostraron una mejor quimio protección a dosis de 500 mg/Kg., donde el cáncer fue pobremente diferenciado, presentando adenomas frente a adenocarcinoma *in situ* y adenocarcinoma a dosis de 250 mg/Kg y 100 mg/Kg. Conclusión: En ratas, el extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* tiene efecto quimio protector sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidracina.

Martínez et al. ⁽¹³⁾ **(2010)**, en su estudio titulado “Evaluación de la actividad antifúngica in vitro de extractos polares de plantas del género *Baccharis* sobre Fito patógenos”. Se aplicó la extracción con etanol (E) y agua destilada (A) de *Baccharis latifolia* (BL), *Baccharis genistelloides* (BG). Para la evaluación antifúngica se utilizó 20mg/mL y 50 mg/mL de cada extracto, mediante el método de difusión en agar en pozo central sobre cepas de los hongos *Phytophthora palmivora* QK08 y *Aspergillus niger* QS07. De las dos especies del género *Baccharis*, solo *Baccharis latifolia* tiene actividad inhibitoria frente a los dos fitopatógenos *Aspergillus niger* y *Phytophthora palmivora*. Se puede considerar en especial el extracto etanólico a 20 mg/mL que inhibe a los dos hongos en un 65,8% y 98,8% respectivamente. De otro lado, el *Baccharis genistelloides* (50 mg/mL) presentó una inhibición aproximada del 50% solo frente a *Aspergillus niger* con los extractos etanólicos y acuosos.

Hoyos, Yep ⁽¹⁵⁾ **(2008)**, esta investigación tuvo como objetivo diseñar una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio. El estudio se dividió en 2 momentos: la obtención, caracterización y evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de la especie *Baccharis latifolia* “chilco”, y la obtención, caracterización y evaluación de la actividad antiinflamatoria de una forma farmacéutica de aplicación tópica conteniendo el extracto en estudio. Para la obtención del extracto hidroalcohólico se utilizaron hojas secas y pulverizadas de la planta proveniente del departamento de Amazonas. Se usó el método del edema plantar inducido con carragenina en ratones, aplicando concentraciones de 1,25 mg/g, 2,5 mg/g, 5 mg/g y 7 g/mg del extracto frente a un grupo control; se determinó que la menor concentración que mantiene una inhibición de la inflamación mayor al 70 % después de la inyección de carragenina es la concentración de 2,5 mg/g. Esta concentración fue elegida para desarrollar la forma farmacéutica que permitiera la incorporación del extracto al 2 % respecto al residuo seco, obteniéndose con la forma farmacéutica crema – gel características

óptimas en el producto terminado, el mismo que fue evaluado fisicoquímica y cromatográficamente.

2.1.2. INTERNACIONALES

Zampini et al. (2009) ⁽¹⁶⁾, estudiaron los compuestos antimicrobianos y antioxidantes de la infusión y extracto metanólico de *Baccharis incarum* (WEDD.) Perkins. En la medicina tradicional de las tierras altas de América del Sur, la infusión y decocción de las partes aéreas de "tola", *Baccharis incarum* (Wedd.) Perkins (Asteraceae) es tomado por vía oral como un antiséptico y antipirético digestivo o se aplica externamente para aliviar el dolor y la inflamación. Se compararon una infusión de la planta y el extracto metanólico (MeOH) de las partes aéreas para los componentes principales por HPLC-MS, así como para evaluar las actividades antimicrobianas y barrido de radicales libres. Se llevó a cabo el ensayo de fraccionamiento guiado de los extractos polares utilizando ABTS•+ autográfico así como la prueba bioautográfica para *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Enterococcus faecalis*. Siete compuestos se aislaron de los extractos polares y se identificó como ácido clorogénico, 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone; ácido quínico, 3',4',5,7-tetrahidroxi-3,6-dimetoxiflavona; 3',4',5,7-tetrahidroxi-3,6,8-trimetoxiflavona, 4',5,7-trihidroxi-3', 3,6,8-tetrametoxiflavona y 4',5-dihidroxi-3',3,6,7,8-pentametoxyflavona. Los componentes principales del extracto de metanol y la infusión son derivados del ácido cafeico. Este es el primer informe sobre los constituyentes infusión de *B. incarum* y muestra diferencias claras con anteriores estudios fitoquímicos en la misma planta. Todos los compuestos aislados mostraron actividad antioxidante con valores SC50 de 1 a 10 mg/mL. Las flavonas aisladas fueron activas frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y *Enterococcus faecalis* con los PRM en el rango de 100 y >200 mg/ML.

Naranjo A. (2013) ⁽¹⁷⁾ su investigación se titula "Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)". Este trabajo académico tuvo como objetivo conocer el efecto diurético del

extracto hidroalcohólico de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. Para ello se organizaron 6 grupos de ratas, se dividieron de la siguiente manera: blanco, control positivo y los diferentes tratamientos RA, RB, RC, RD con distintas concentraciones de fenoles. Para la cuantificación de los polifenoles se aplicó el método de Folin-Ciocalteu. Asimismo, se utilizó la cromatografía en capa fina y columna para identificar los metabolitos, se aplicó agua, ácido fórmico, acetato de etilo. Los resultados del estudio fueron los siguientes: la diuresis del Blanco es 2 mL, el control positivo (furosemida) da 8 mL, los polifenoles 10, 20, 30, 40, 80 mg/Kg dan 1.6; 3.5; 2.9; 1.9; 0.9 mL de orina respectivamente. Conclusión: con 20mg/Kg que posee un porcentaje de diuresis en relación al blanco del 75% y frente al control de un 47%, con un volumen de excreción al administrado de 78% y que el extracto no presenta toxicidad alguna.

Allauca, A. (2017), ⁽¹⁸⁾ este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las flores de cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) sobre ratas (*Rattus norvegicus*) utilizado como modelo animal. Para la evaluación diurética fue necesario el uso de 25 roedores (ratas), que pesaron de 180 a 250 gramos, a estos se les suministró 3 dosis distintas (25, 100 y 200 mg/kg), furosemida (10 mg/kg) como control positivo y carboximetil celulosa 0,9 % p/v como vehículo. Luego, se procedió a la medición del volumen de orina excretada y electrolitos en un periodo de seis posteriores al administración del tratamiento. De otro lado, se determinó la existencia de compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, lactonas, cumarinas, triterpenos y esteroides por medio de un tamizaje fitoquímico. El contenido de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico fue de $12,01 \pm 0,21\%$, mientras que el de flavonoides de $15,85 \pm 1,53\%$. La actividad captadora de radicales libres del extracto obtuvo un IC₅₀ de 907,003 µg/mL, mientras que la del ácido gálico utilizado como referencia alcanzó un IC₅₀ de 35,1985 µg/mL. Se comprobó el efecto diurético del extracto obtenido a partir de las flores de *Oreocallis grandiflora* a las tres dosis administradas. La dosis de 25 mg/kg de extracto hidroalcohólico no presentó diferencias significativas en relación con el volumen de orina excretado, no obstante, se identificaron concentraciones inferiores de Na y Ca.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 TAYA

2.2.1.1 Descripción botánica

La familia *Asteraceae* es el grupo más numeroso dentro de las angiospermas, el cual comprende 1100 géneros y 25000 especies. Las plantas son muy variadas en apariencia, incluyendo hierbas, en su mayoría pequeñas o arbustos, raramente árboles. Alrededor del 98% de los géneros se componen de pequeñas plantas.

El género *Baccharis* forma parte de la subfamilia *Asteroidea* que se caracteriza por poseer todas las flores del capítulo flosculosas o con las flores del disco flosculosas y las marginales liguladas, tridentadas o bilabiadas; nunca con lígulas en el disco. No tienen tubos laticíferos; pero a menudo presentan cavidades esquizógenas ⁽¹⁹⁾.



Figura N° 1: Presentación botánica del género *Baccharis*.

Arbusto: Puede llegar a medir hasta 3 metros de alto. Es de color gris, además tiende a ser cilíndrico y áspero. Sus ramas son delgadas, la zona apical es deforme con ramitas terminales, sección circular, mide de

cuatro a seis centímetros de diámetro, aparasolada poco densas, glabras y con aguijones dispersos ⁽²⁰⁾.

Hojas: Están comprendidas por bipennadas, alternas, dispuestas en espiral, peciolo (dos a tres centímetros), raquis de 3-5-7 cm de longitud, 2-3 pares de pinnas opuestas, foliolos 7-8 pares opuestos oblongos, el ápice marginado, diminutamente mucronado, base asimétrica, glabra, nervaduras secundarias 7-8 pares⁽³⁾.

Inflorescencias: En racimos mide de ocho a doce centímetros de longitud ⁽³⁾.

Flores: son hermafroditas, zigomorfas; cáliz tubular, púber con segmentos obtusos, de 3 mm de longitud, la parte superior posee fibras pectinadas; corola con 5 pétalos libres, amarillos, orbiculares, espatulados o escasamente oblongos, estambres 10, filamentos filosos o glandulares, blancos, anteras rojizas, con dehiscencia longitudinal, pistilo curvado verdoso ⁽³⁾.

Frutos: son legumbres rojizas, oblongas, moderadamente comprimidas de seis a once centímetros de longitud, indehiscentes de coloración rosa, con el mesocarpio arenoso, esponjoso, y 912 semillas de unos 1 x 0,5 x 0,3 cm, reniformes, de coloración marrón pardo con la superficie lustrosa dura, y con uno de los dos lados más grande ⁽⁴⁾ .

El *Baccharis chilco* Kunth (taya) comienza a producir entre los 4 a 5 años, dependiendo del tipo de suelo y de las condiciones medioambientales, alcanzando un rendimiento aproximado de 15 Kg. de frutos o vainas en bosques naturales u de 25 a 40 Kg. bajo sistemas cultivados. La cosecha o recolección se efectúa 2 veces al año ⁽⁵⁾.

2.2.1.2 Clasificación taxonómica

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Baccharis*

Especie: *Baccharis chilco* Kunth

Nombre Vulgar: "Taya"

Fuente: Herbario Universidad San Marcos

2.2.1.3 Distribución

Por lo general, se desarrolla en lugares semiáridos, con una precipitación media anual de 230-500 mm y temperaturas medias anuales de 14,7-27,5°C. ⁽²⁰⁾ Climáticamente se desarrolla en clima templado cálido seco y también en clima tropical muy seco, así como en bosques tropicales húmedos.

El *Baccharis chilco* Kunth (*Taya*) crece en la región costa del Perú, es decir, en las laderas y lomas ubicados entre los 800 y 2.800 m. s. n. m., y en los valles interandinos que se encuentran entre los 1.600 y 2.800 m. s. n. m. ⁽²¹⁾

Baccharis es el género más grande de la familia de las compuestas, con más de 500 especies distribuidas por todo el norte y los continentes de América del Sur. Las especies de este género se distribuyen principalmente en las regiones cálidas templadas y tropicales de Brasil, Argentina, Colombia, Chile y México. Se encuentran en todos los tipos de hábitats, pero principalmente en las montañas tropicales de América del Sur ⁽²²⁾.

El Perú es un gran productor en el mundo, ya que representa más del 80% de la producción del *Baccharis*. Los departamentos con mayor venta de este género son Cajamarca, Ayacucho, Lambayeque,

Huánuco y La Libertad. Cabe señalar que Cajamarca concentra un gran número de bosques nativos (66%) y de bosques nativos (34%) ⁽²¹⁾.

2.2.1.4 Propiedades y usos medicinales

Muchos usos medicinales tradicionales generales de *Baccharis* incluyen el tratamiento de heridas, úlceras, fiebre, enfermedades gastrointestinales; como espasmolíticos, diuréticos y analgésicos. En el tratamiento de la diabetes y las infecciones bacterianas y fúngicas; como el paludismo, reumatismo, dolor de cabeza, gota ⁽²³⁾

2.2.1.5 Composición química

La fitoquímica del género *Baccharis* ha sido ampliamente estudiada desde el año 1900. Hoy en día, más de 150 compuestos han sido aislados e identificados a partir de este género. Los compuestos más destacados en el género *Baccharis* son los diterpenoides, aunque principalmente son otros los componentes biológicamente activos, por ejemplo: compuestos fenólicos, aceites esenciales, triterpenoides, flavonoides, cumarinas y derivados fenólicos simples.

Los flavonoides, junto con los diterpenos son los compuestos de mayor ocurrencia en *Baccharis* y se describen como buenos marcadores quimiotaxonómicos para los niveles jerárquicos más bajos de la familia Asteraceae ⁽²²⁾.

Taninos:

Están conformados por fenólicos, los cuales se encuentran en los frutos y plantas. Son hidrosolubles y su composición química no es uniforme, son astringentes y coagulan los alcaloides, albúminas y metales pesados. Son polvos deformes y de coloración amarillo, tiene la apariencia de grasiento, poco denso. Estos son fáciles de disolver en agua y alcohol, e insolubles en éter y benceno y cloroformo; cuando se calientan a 210°C se descomponen generando dióxido de carbono y pirogalol ⁽²⁴⁾.

En la *Baccharis chilco* Kunth (taya) la concentración de taninos es alta, a diferencia de las vainas, estas últimas son de color rojo a amarillo,

pueden ser usados como polvo de tara, previamente molidos. Los taninos son muy importantes y beneficioso para la industria de la curtiembre ⁽²⁴⁾.

Propiedades químicas

El tanino es una concentración de moléculas, la cual tiene el rol fenol. Se dividen de la siguiente manera: taninos hidrolizables o pirogálicos y condensados o pirocatéquicos. El peso molecular debe ser mayor a 500 g/mol para lograr una combinación rígida con las proteínas, pero menor a 3000 g/mol, ya que, si es muy voluminoso no se pueden acercar a una medida adecuado a los sitios activos de las proteínas. Existen dos clases de taninos: hidrolizables y condensables ⁽²⁴⁾.

Taninos hidrolizables: Están conformados por una molécula glucídica, sobre la cual se adhieren cuerpos fenólicos, son hidrolizados por ácidos (o enzimas) en un azúcar o polihidroalcohol relacionado y en un ácido carboxílico fenólico. Dependiendo de la naturaleza del ácido carboxílico fenólico, los taninos hidrolizables se subdividen en galotaninos y elagitaninos. La hidrólisis de los galotaninos origina ácido gálico, mientras que la de los elagitaninos produce ácido hexahidroxidifénico, el cual se aísla normalmente como su dilactona estable, el ácido elágico⁽²⁴⁾.

Taninos condensados: Son conocidos también como proantocianidinas, estas son poliflavonoides que constituidas por cadenas de unidades de flavan-3-ol. La clase más usual de proantocianidinas son las procianidinas. Mientras que los taninos hidrolizable y condensados padecen una polimerización a la forma amorfa de flobafenos o taninos rojos, bajo la acción de ácidos ⁽²⁴⁾.

Usos de la taya

La taya tiene diversos usos, tales como:

1. Curtido de cueros.
2. Fabricación de plásticos y adhesivos.

3. Conservación de utensilios por sus propiedades fungicidas y bactericidas.
4. Clarificación de vinos.
5. Sustitución de la malta para dar cuerpo a la cerveza.
6. Protección de metales.
7. Industria cosmética.
8. Industria fotográfica.
9. Perforación petrolífera.
10. Elaboración de aceites.
11. Elaboración de alimentos como goma para dar consistencia a helados, mayonesas, mostaza, embutidos, sopas, yogures, comida para bebés y mascotas, y otros productos alimenticios.
12. Elaboración de polvo proteico para jabones, pinturas, barnices, esmaltes (en los tres últimos por su acción anticorrosiva).
13. Medicina, por sus efectos astringentes, antiinflamatorios, antisépticos, antimicóticos, antibacterianos y antiescorbúticos.
14. Industria del papel.
15. Industria farmacéutica, en la elaboración de productos dietéticos y para diabéticos.
16. Tradicionalmente dolencias de garganta y heridas. ⁽²¹⁾

2.2.2 Farmacología renal

La homeostasis del medio interno es mantenida con la participación de los riñones; cuya actividad prioritaria es mantener el pH, el volumen y la concentración de los líquidos corporales. La homeostasis se realiza mediante las a tres funciones siguientes:

Función secretora: el riñón produce hormonas (renina, eritropoyetina y otras sustancias como el ácido úrico y amoníaco).

Función reguladora: se realiza a través de tres mecanismos: filtración glomerular, reabsorción tubular y secreción tubular. Así, el riñón regula

la concentración de la mayor parte de solutos que constituyen el líquido extracelular:

- Regulación del agua corporal, función en que participa la ADH (hormona bajo control hipotálamo- hipofisiario).

- Regulación del equilibrio hidroelectrolítico (mantenimiento de iones calcio, cloro, potasio y fosfato). En esta función también participan otros mecanismos endocrinos.

- Regulación del equilibrio ácido – básico, el riñón elimina ácidos y retiene bases.

Función excretora: el riñón excreta los productos finales del metabolismo (exceso de agua, de solutos, residuos metabólicos como la urea, la creatinina, el ácido úrico, etc.) ⁽²⁵⁾

2.2.2.1 Regulación de la presión arterial

Los diuréticos son utilizados desde hace muchos años en el tratamiento de la hipertensión arterial, y constituyen los fármacos antihipertensivos con los que se tiene la experiencia más prolongada.

En una fase inicial, la actividad antihipertensiva de los diuréticos está relacionada con su acción perdedora de agua, que conducen a la disminución del volumen extracelular y del gasto cardíaco, que explica la disminución de la PA. Sin embargo, este efecto es transitorio pues, luego de días o semanas de mantener el tratamiento, el volumen extracelular y el GC retornan a sus valores previos, pero el efecto antihipertensivo persiste. Esto se explica por lo siguiente. A largo plazo, los diuréticos provocan una reducción sostenida de la RVP. Esto se atribuye a diferentes factores:

Acción directa de los diuréticos sobre la pared de las arteriolas. Se postula que los diuréticos bloquean el metabolismo energético de la membrana de estas células inhibiendo la enzima 3,5-fosfodiesterasa, lo que modularía la actividad de los canales de K⁺ regulados por ATP, acción molecular que conduciría a una hiperpolarización de la

membrana, que impide la entrada de Ca^{2+} y la contracción del músculo liso arteriolar.

- Descenso del calcio citosólico por cambios en la bomba de Na^{+} - Ca^{++} y/o por obstrucción de los conductos de entrada del sodio.
- Obstrucción indirecta de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), debido a la disminución considerable del zinc.
- Pérdida de los niveles plasmáticos de una sustancia parecida a la ouabaína.
- Incremento de la secreción de prostaglandina E, prostaciclina y kalidina.
- Descenso de la reactividad del músculo liso vascular a la noradrenalina por cambios del sodio intracelular ⁽²⁵⁾.

2.2.2.2 Función renal en la enfermedad

El propósito fundamental de los diuréticos está orientados a tratar los edemas. No obstante, indirecta o directamente pueden cambiar otros iones y modificar las funciones, por ello, se utiliza para otras dolencias, como la hipertensión arterial, las intoxicaciones, las hipercalcemias, el glaucoma, la diabetes insípida, etc. ⁽²⁶⁾

Estados edematosos. En muchas enfermedades, la cantidad de cloruro de sodio reabsorbido por los túbulos renales es anormalmente alta. Esto conduce a la retención de agua, un aumento en el volumen de sangre, y la expansión del compartimento de fluido extravascular, que resulta en edema de los tejidos. Varias causas comúnmente encontradas de edema incluyen insuficiencia cardíaca, ascitis hepática, síndrome nefrótico y edema premenstrual.

Estados no edematosos

Los diuréticos también pueden encontrar una amplia utilización en el tratamiento de enfermedades no edematosas como hipertensión, hipercalcemia y diabetes insípida ⁽²⁷⁾.

Diuréticos

Los diuréticos aumentan la afluencia de la excreción de Na y de orina, el cual se utiliza para la regulación de composición y/o volumen de los líquidos corporales en distintas situaciones clínicas, entre las que destacan la insuficiencia renal y cardíaca, cirrosis, hipertensión y síndrome nefrótico⁽²⁸⁾.

Clasificación de los diuréticos

Los diuréticos se dividen, en función a su eficacia diurética, estructura química y el sitio de acción.

a) Diuréticos de máxima eficacia. Se desarrollan en los segmentos diluyentes; la fracción de desecho de electrolitos de sodio es mayor al 15%. Los más resaltantes son los sulfamoilbenzoatos furosemida, bumetanida y piretanida, el procedente de la sulfonilureatorasemida (torsemida), el derivado del ácido fenoxiacético ácido etacrínico y la tiazolidonaetozolina.

b) Diuréticos de eficacia mediana. Funcionan en la última porción de la zona diluyente cortical y en la primera del túbulo distal; la fracción de desecho de los electrolitos de sodio es del 5-10 %. Forman parte del grupo las benzotiadiazinas (tiazidas e hidrotiazidas): hidroclorotiazida, altizida, bendroflumetiazida y mebutizida; sus derivados son clopamida, clortalidona, indapamida, xipamida y quinetazona.

c) Diuréticos de eficacia ligera

La parte de desecho de electrolitos de sodio es menor al 5 %. La zona de acción no es estable:

1. Ahorradores de K⁺: se desarrollan en la parte final del túbulo distal por inhibición de la aldosterona: espironolactona y canrenoato de potasio, o con independencia de la aldosterona: amilorida y triamtereno.

2. Inhibidores de la anhidrasa carbónica: acetazolamida y diclorfenamida.
3. Agentes osmóticos: trabajan en el túbulo proximal: manitol e isosorbida

Furosemida

Furosemida o ácido 4 - cloro - N - furfuril – 5 –sulfamoilantranílico.

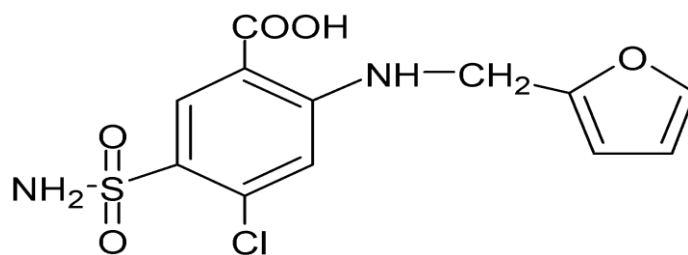


Figura N°2: Estructura química de la furosemida

Mecanismo de acción. Los diuréticos de alta eficacia, conocidos como diuréticos del asa actúan inhibiendo la reabsorción tubular del Na y Cl, en la zona medular y cortical de la rama ascendente gruesa del asa de Henle. La acción está vinculada con una inhibición de la enzima Na-KATPasa.

La furosemida y bumetanida, también inhiben a la AC, no obstante, esta acción es muy deficiente para ser tan sobresaliente. Además, crece el flujo sanguíneo renal, y el riego sanguíneo, ubicado en la médula renal, pudiendo así interponerse con el mecanismo multiplicador de contracorriente, que requiere la médula renal, sea hipertónica. Estos diuréticos, incrementan la excreción de sodio, cloruro, potasio y agua.

Acciones farmacológicas y efectos adversos. El efecto diurético, por lo general, es muy fuerte. El flujo urinario puede ser abundante (hasta 10 litros en 24 hs.). Esta droga puede generar desestabilización de

hidroelectrolítico, la cual puede ser dañina, por ello, debe los pacientes deben estar en constante observación.

Como los tiazídicos los diuréticos de alta eficacia, también aumenta la excreción de potasio, pudiendo ocasionar hipopotasemia. Además, pueden generar hiperuricemia por medio del mecanismo descrito para las tiazidas. Incrementan la excreción de Mg, mientras que las tiazidas acrecienta el desecho del Ca (acción calciúrica), el cual puede ser utilizado en pacientes que padecen de hipercalcemia sintomática. Los diuréticos de alta eficacia pueden generar ototoxicidad por modificaciones en los electrolíticos en la endolinfa del oído medio. ⁽²⁹⁾

Los efectos adversos que estos puedan generar se destacan: sordera e hipoacusia, los cuales pueden ser reversible. Por ello, se debe evitar el suministro conjunto de diuréticos y aminoglucósidos, ya que se corre el riesgo de que la acción ototóxica puede potenciarse.

De igual forma, la nefrotoxicidad de las cefalosporinas de las últimas generaciones, o de los aminoglucósidos puede aumentar el suministro a la par con furosemida o ácido etacrínico. Además, puede ocasionar reacciones, como hemorragias digestivas, disfunción hepática, hipoplasias medulares y alergia cutánea. ⁽²⁹⁾

Farmacocinética: Los diuréticos de alta *eficaciase* tienen una veloz absorción por vía oral. Asimismo, tiene una óptima biodisposición, y se adhieren a las proteínas plasmáticas. Se secretan activamente en el túbulo proximal, y por el fluido tubular llegan a su sitio de acción en el asa de Henle ⁽²⁹⁾.

2.3. HIPÓTESIS

2.3.1. HIPÓTESIS GENERAL

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) posee efecto diurético en ratas albinas.

2.3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. Las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) son los posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta una dosis con mayor efecto diurético en ratas albinas.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta mayor efecto diurético respecto a la furosemida en ratas albinas.

2.4. VARIABLES

2.4.1 TABLA DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
VI. Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya).	Fitoquímico	Identificación de Metabolitos secundarios	250mg/kg, 500mg/kg y 1000mg/kg de dosis.
VD Efecto diurético	Farmacológico	1. Volumen de orina 2. Eficacia diurética 3. Variación de peso corporal	Presenta No presenta

2.5. MARCO CONCEPTUAL

Medicina tradicional: Está referida al total de conocimiento y práctica sustentado en las experiencias, teorías y creencias ancestrales proveniente de distintas culturas, el cual utilizado por calmar alguna dolencia, prevenir y curar enfermedades, ya sean mentales o físicas ⁽⁷⁾.

Secado de la planta: Este proceso es vital para la conservación de los principios activos de las plantas, para ello se requiere secar las flores o raíz, dependiendo de la zona que quiera extraer o conocer los principios activos. Cabe señalar que, el secado de la planta debe darse lo más pronto posible después de ser cosechada, debido a que, pasadas las tres y horas medias de almacenamiento, entonces la planta pierde hasta un 30% de carotenoides y hasta un 26% de los flavonoides. Asimismo, se sugiere que la temperatura adecuada para este proceso sea de 80°C, de esta manera se asegura una mayor permanencia de flavonoides y carotenoides. De otro lado, las temperaturas superiores a los 100°C provoca la disminución de los principios activos ⁽⁷⁾.

Drogas Vegetales: Está referida a la sección de la planta medicinal que posee mayor o menor concentración de principios activos, estos pueden estar presentes en la semilla, tallo, hoja, flor, raíz y fruto. Cabe precisar que, las hojas tienen un alto contenido de heterósidos y alcaloides, mientras que el tallo es un conducto entre la raíz y las hojas, no obstante, pueden poseer principios activos en la corteza o en la albura ⁽²⁸⁾.

Obtención de extractos: Con respecto a este proceso, primero se debe obtener el extracto con ayuda del éter de petróleo, alcohol y propilenglicol, dando ciertas condiciones de preparación y afirmando que los principios activos son los carotenoides y los flavonoides. Asimismo, evidenciaron que estos extractos no evidenciaron propiedades carcinogénicas, ni toxicidad crónica durante dieciocho meses.

Maceración: está referida al unión extendida durante largos períodos del menstuo con la droga, lo cual forma parte de un grupo igualitariamente mezclado en el cual el menstuo tiene una reacción simultánea sobre todos los segmentos de droga, circulando por medios de todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta originar una concentración equilibrada con la del contenido celular.

Taxonomía: Es una ciencia que comprende métodos, principios de la clasificación de distintos géneros. Es utilizada para la organización y jerarquización de los vegetales y animales ⁽⁷⁾.

Solubilidad: Es la capacidad de disolución de un compuesto químico; no obstante, esto está en función a la forma en que se encuentran: Aglicones libres (son insolubles en agua) o heterosidos (son solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos).

Extracto hidroalcohólico: Líquido concentrado, obtenido de la extracción de una planta o parte de ella, el cual es usado como solvente alcohol y agua. Posee color y aroma propios de la planta del cual fue sustraído.

Desecación : Procedimiento que comprende la eliminación de agua de las plantas para su conservación en herbarios, alejadas del contacto directo de los rayos solares y tratados a temperatura ambiente.

Diurético: Las sustancias denominadas diuréticas, son las que poseen la propiedad de que al ser ingeridas causan la eliminación de agua y electrolitos del organismo, mediante la orina, así como la expulsión de materia fecal ⁽²⁸⁾.

Furosemida: La furosemida es un diurético de asa de la familia de las sulfonamidas utilizado en el tratamiento del edema asociado a la insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis y enfermedad renal, incluyendo el síndrome nefrótico. Pertenece al grupo de los diuréticos de alto techo ⁽²⁸⁾.

CAPÍTULO III:

MÉTODO

3.1. TIPO DE ESTUDIO

La investigación responde al enfoque Cuantitativo según su enfoque, ya que se busca dar respuestas objetivas y expresadas además en índices numéricos puntuales del objeto de estudio, según su propósito es una Investigación básica, ya que busca dar la explicación y propuesta de solución a un problema común relacionado a la excreción urinaria y de este modo evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya).

La Investigación además es de carácter longitudinal; ya que en su desarrollo se propuso evaluar farmacológicamente por única vez a cada unidad muestral, es decir se midió la actividad diurética en las ratas inducidas a problemas renales.

Es de carácter experimental ya que la investigación tuvo la posibilidad de manipular la variable independiente en forma aleatoria, lo cual consistió en elaborar el extracto hidroalcohólico de la planta mencionada en diferentes concentraciones y medir su efecto sobre diurético sobre la variable dependiente, además, debido a la poca existencia de antecedentes respecto de los efectos diuréticos *in vivo*, de *Baccharis chilco* Kunth (Taya), el estudio se realizó en condición de Investigación exploratoria.

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

En cuanto a su diseño el estudio es de carácter experimental, debido a que se manipula las variables deliberadamente, es decir el investigador diseñó un esquema experimental el cual contó con un grupo control positivo, negativo y grupos experimentales a los que se aplicó el extracto hidroalcohólico. En su proceso el estudio variò de manera deliberada las variables para observar sus consecuencias o efectos sobre la variable dependiente. De este modo se manipula las distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico deliberadamente para medir el efecto que tienen en otra variable de interés que es el efecto diurético, dicho efecto se atribuye a los metabolitos presentes en la planta.

3.3. POBLACIÓN

Se realizó el ensayo con la planta de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) recolectadas en el distrito la Unión, provincia 2 de mayo, del departamento de Huánuco.

Recolectando 20 tallos de *Baccharis chilco* kunth (TAYA) por m2.

3.4. MUESTRA

3 kg. de hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) recolectadas en el distrito la Unión, para la elaboración del extracto hidroalcohólico.

25 ratas albinas de cepa Holtzman distribuidas en grupos de 5

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.5.1 TÉCNICAS

1. Screnning Fitoquímico

Estos ensayos se pueden verificar sobre la misma droga; en forma entera, pulverizada o como es más frecuente en extractos que se pudieron obtener de diferentes procedimientos de extracción de la planta y con diferentes solventes.

Son ensayos de tipo cualitativo que permiten la identificación de la droga a estudiar, es por lo general la presencia de determinados compuestos específicos derivados del metabolismo secundario de la planta.

También para los ensayos de metabolitos secundarios se les hace prueba pero van a hacer comunes a todas las plantas es por eso que carece de interés diagnóstico.

Las pruebas para el screening fitoquímico comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación)

Los principios activos que usualmente se encuentran en las drogas vegetales están en concentraciones limitadas por lo mismo se debe realizar una perfecta extracción de estos. Ya que, si esta es deficiente puede confundirse los resultados ⁽³¹⁾.

2. Prueba de Solubilidad: Este proceso sirve para observar la polaridad o apolaridad de los metabolitos secundarios presentes en el extracto. Da la facilidad de observar en que solvente se pueden analizar dicha especie. Este fue realizado con 1 ml del extracto + 1 ml de cada reactivo utilizado: cloroformo, etanol, agua, éter y acetato de etilo.

3. Cromatografía en capa fina, prueba de flavonoides totales por espectrofotometría UV-VIS

Son técnicas analíticas simples, se puede realizar con muy poca muestra, es una técnica ampliamente usada en los controles de toda clase de productos naturales.

También puede ser empleado como ensayo cuantitativo comparando las intensidades de las manchas visualizadas con patrones adecuados.

La detección de los compuestos separados generalmente se realiza por métodos generales o específicos, la luz UV permite detectar sustancias que absorben a la longitud de onda larga 365nm y de onda corta a 254 nm.

4. Determinación de la toxicidad aguda.

Se empleó el protocolo establecido por la OECD (2001), en ratones albinos.

5. Determinación del efecto diurético.

Se empleó el modelo propuesto por Cotillo y Rojas ⁽³⁰⁾.

6. Diseño experimental. Fue completamente aleatorio:

Grupo I (control negativo):

Administración P.O. de solución de cloruro de sodio 0.9% en 5 mL de agua destilada.

Grupo II (Control positivo):

Administración P.O. de furosemida a una dosis de 40 mg/Kg de peso.

Grupo III:

Administración P.O. de extracto hidroalcohólico de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) a una dosis de 250 mg/Kg de peso.

Grupo IV:

Administración P.O. de extracto hidroalcohólico de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) a una dosis de 500 mg/Kg de peso.

Grupo V:

Administración P.O. de extracto hidroalcohólico de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) a una dosis de 1000 mg/Kg de peso.

3.5.2 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Equipos

Para el trabajo se utilizaron los siguientes equipos:

1. Balanza Gramera AND: pesado de las ratas albinas.
2. Balanza Analítica METTLER TOLEDO: pesado de las hojas de la Taya.
3. Estufa THERMOLYNE: secado de las hojas de la Taya.
4. Rotavapor BUCHI R-300: extracción de alcohol de las hojas de la Taya.
5. Espectrofotómetro AGILENT TECHNOLOGIES UV-VIS: cuantificación total de Flavonoides.

6. Plancha de calentamiento IKA C-MAG HS7: secado de las placas cromatográficas.
7. Luz UV 254 y 366 nm CAMAC: para ver las manchas de Alcaloides y Flavonoides

Materiales

Se utilizaron los siguientes materiales:

1. Alimento balanceado de la Universidad Agraria La Molina
2. Viruta de pino procesada
3. Jaulas de polipropileno con tapa de acero inoxidable.
4. Jeringas de 1mL
5. Jaulas Metabólicas
6. Material estéril de Laboratorio
7. Papel Kraft
8. Matraz Erlenmeyer
9. Embudo de vidrio
10. Papel filtro
11. Tubos de ensayo
12. Pipetas
13. Fiolas de 50 mL
14. Pera de bromo de 250 mL
15. Estándar de Quercetina
16. Estándar de Cafeína
17. Sonda nasogástrica

Reactivos

Para el trabajo se utilizaron los siguientes reactivos:

1. Mayer
2. Wagner
3. Dragendorff
4. Ácido Fosfowolframio
5. Sonneschein

6. Reineckato
7. Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)
8. Cloruro Férrico
9. Gelatina al 1%
10. Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)
11. Ninhidrina
12. Fehling A
13. Fehling B
14. Lugol
15. Reactivo 2,4 DNPH
16. Alcohol de 96°C
17. Metanol
18. Etanol
19. Cloroformo
20. Agua destilada
21. Isopropanol
22. Tricloruro de Aluminio al 2%
23. Acetato de sodio 1 M
24. Metanol : Agua (25:75)
25. BAW (Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)
26. Ácido sulfúrico 2 N
27. Hidróxido de sodio al 10%

3.5.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.4.3.1 Colecta de la especie.

Se procedió a separar las hojas con cuidado y recolectarlas en papel Kraft, para luego ser llevado a la estufa a una temperatura de 40 °C; se utilizó esta temperatura para no alterar los metabolitos que queremos evaluar.

Elaboración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (taya).

Una vez ya seca las hojas de la Taya son molidas manualmente, todo esto con indumentaria apropiada de asepsia.

Es pesada en la balanza analítica para saber cuánto de alcohol-agua (70-30) vertemos a la muestra para la extracción, la muestra se macera por una semana (7 días) con agitación constante y protegidos de la luz una vez para no alterar los metabolitos que pudieran tener.

Después del tiempo transcurrido la muestra de *Baccharis chilco* Kunth (taya) es filtrada con papel Whatman, para no dejar pasar las hojas y solo líquido para nuestros análisis posteriores.

Para el procedimiento del extracto seco se llevó el extracto filtrado al rotavapor, equipo que es utilizado para la evaporación del solvente; este equipo consta de la una vasija de calentamiento donde se colocó el agua destilada, un brazo que sujeta el balón donde es depositada la muestra y al otro extremo un refrigerante que tiene una terminación para el recojo del alcohol en la muestra. Este trabajo se realizó a una temperatura controlada la cual no excedió los 50°, después de un tiempo transcurrido la muestra fue llevada a la estufa a 40° para obtener el extracto seco en forma de melcocha (extracto seco).

La muestra fue recolectada en envase protegido de la luz y guardada a temperatura de 2 a 8 °C hasta su utilización para la prueba de solubilidad y dosificación para la prueba de la actividad diurética.

Prueba de Solubilidad del extracto hidroalcohólico

Para la prueba de solubilidad se empleó el extracto seco de *Baccharis chilco* Kunth (Taya), se tomó una pequeña cantidad de muestra seca y se colocó en los tubos de ensayo para luego ser vertido en tubos de 3 a 5 mL con solventes como (Alcohol de 96°, metanol, etanol, cloroformo, agua e isopropanol) esta prueba da referencia en que solventes es más soluble la muestra a tratar.

Se tuvo en cuenta la Polaridad del disolvente por que este le da propiedades de solubilización en diferentes solutos.

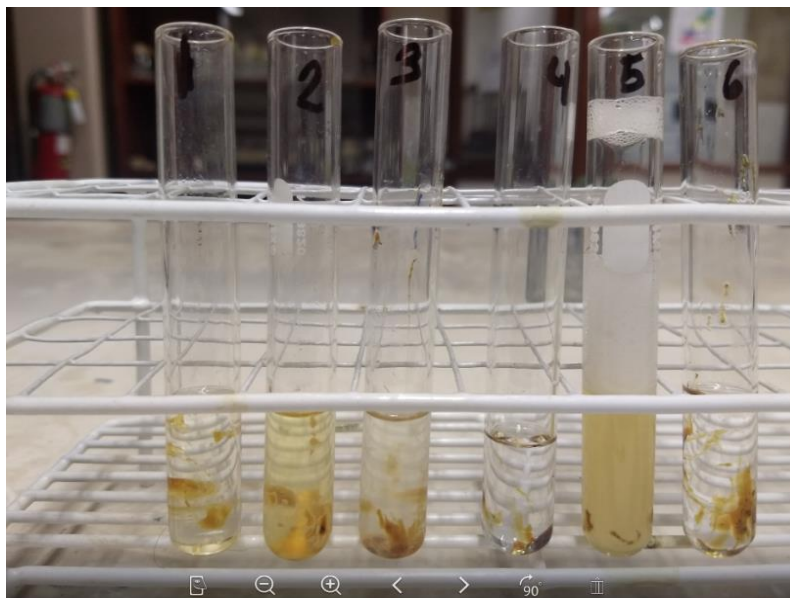


Figura N°3: Prueba de Solubilidad.

Screnning Fitoquímico

El procedimiento es poner de 2 a 5 mL del extracto de *Baccharis chilco* Kunth (taya) en los tubos de ensayo para luego agregar de tres (03) a cinco (5) gotas de los reactivos para la identificación de los metabolitos.



Figura N° 4: Reactivos usados en la marcha Fitoquímica

Metabolitos Secundarios

A.- Prueba para Alcaloides

Para la prueba de identificación de alcaloides se hicieron ensayos generales (Wagner, Mayer, Dragendorff, Scheibler, Sonneschein y Reineckato) sobre el extracto de *Baccharis chilco* Kunth (taya), se considera que hay presencia de alcaloides si se obtienen cuatro resultados positivos de los ya citados.

Reactivo de Mayer.- (Yoduro de mercurio y potasio), es de color blanco o crema en el momento en el que se agrega tres o cinco gotas de acidulada del extracto.

Reactivo de Wagner.- (yodo-yoduro de potasio), cuando se le añade tres o cinco gotas se pone de color marrón.

Reactivo de Dragendorff.- (Yoduro de bismuto y potasio), cuando se le agrega tres a cinco gotas de solución acidulada del extracto, entonces se pondrá de color rojo a naranja.

Reactivo de Scheibler.- (Ácido fosfortungstico), cuando se le añade de tres a cinco gotas, entonces adquiere un color blanco.

Reactivo de Sonneschein.- (Ácido fosfomolibdico), cuando se le añade de tres a cinco gotas, cambia de coloración a naranja.

Reactivo de Reineckato.- ($\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]2\text{H}_2\text{O}$), da un precipitado floculante color rosa cuando se le añade de 3 a 5 gotas.

B.- Prueba de Flavonoides y Compuestos Fenólicos

Las plantas condensan una gran pluralidad de elementos fenólicos dadas en la etapa del desarrollo, estos compuestos productos de la ruta biosintética del ácido fenilpropanoico.

Es interesante señalar que esta clase de metabolitos, caracterizada por su organización posee a las antraquinonas, naftoquinonas y taninos, este

último es condensado de un flavonoide como la antocianidina y si es hidrolizable de ácidos fenólicos.

Reactivo de Shinoda.- (Limaduras de magnesio + HCl concentrado), presenta un coloración de amarillo a rojo a magenta, en el caso de los flavanoles. Serán flavonas si se presenta una coloración roja, azul o violeta. Si en caso la coloración fuera amarilla, entonces sería isoflavonas. Se deduce que son isoflavononas, chalconas y auronas si en caso fueran incoloras.

Reactivo de Cloruro Férrico.- (Cloruro férrico disuelto en agua), emana un color azul, verde o negra cuando se agrega de tres a cinco gotas, prueba general.

Reactivo de Gelatina al 1%.- (Gelatina + cloruro de sodio), cuando se le añade de tres a cinco gotas, entonces será de color blanco (taninos).

Reactivo de Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger).- Para detecta Antraquinonas y Naftoquinonas, se le añadirá de tres a cinco gotas y luego se pondrá de color rojo.

Metabolitos Primarios

A.- Prueba para Glúcidos.

Reactivo de Fehling A y B

Se le agrega 5 mL de Fehling A y B y se lleva a baño maría la presencia de un precipitado anaranjado ladrillo nos da la presencia de Glúcidos en la muestra.

B.- Prueba para Almidón.

Reactivo de Lugol

Si existe almidón en la muestra, entonces adquirirá el color oscuro luego de añadir tres gotas de Lugol.

C.-Prueba para Cetonas.

Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH)

A la muestra se le añade 1 gota de DNPH si presenta un precipitado amarillo o naranja rojizo nos da la presencia de cetonas en la muestra.



Figura N° 5: *Proceso de la marcha fitoquímica.*

Cromatografía en capa fina para Alcaloides

Para la ejecución de este tipo de prueba es necesario el uso de capa fina para alcaloides se utilizó la placa cromatográfica de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para la fase móvil se usó el diluyente de elución de Metanol.

Con respecto a la contrastación fue necesario la utilización del parámetro de cafeína, dada en un dosis de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl, situación parecida con la muestra de *Baccharis chilco* Kunth (Taya).

En la placa cromatográfica se aplicó 5 µl del estándar y de muestra y una vez terminada la corrida la placa fue secada en la plancha de calentamiento hasta evaporar todo el solvente, acto seguido se evidencio las manchas de desplazamiento en la luz UV 254 nm. Para la identificación de alcaloides en la muestra se rocío ácido sulfúrico al 2 % y luego el reactivo de Dragendorff, como revelador, para una evidencia positiva se tiene que ver manchas naranjas.

Las muestra de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) dio positivo para alcaloides.

Cromatografía en capa fina para Flavonoides

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó la placa cromatográfica de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para la fase móvil se usó el solvente de elución de Butanol: Agua: Ácido acético glacial en proporción de (20:15:5) respectivamente, esta mezcla se colocó en una pera de bromo de 250 mL y se agitó, se evidenció la formación de dos fases, la fase móvil es la menos densa.

Para la comparación se usó un estándar de quercetina en una concentración de 10 mg/ mL., el cual se inyectó 5 µl a la placa cromatográfica, caso similar con la muestra de la Taya.



Figura N° 6: Realización de Cromatografía en capa fina para Flavonoides.

En la placa cromatográfica se aplicó 5 µl del estándar y de muestra una vez terminada la corrida la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta la evaporación del solvente, se evidenció las manchas en la luz UV a 254 nm, y se usó como revelador el tricloruro de aluminio, para una muestra positiva característico de manchas amarillas.

La muestra de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) dio positivo para flavonoides.

Prueba de espectrofotometría UV VIS para determinar Flavonoides Totales

Para las técnicas cromatográficas para su separación o detección para flavonoides son muy variadas, así como también en las condiciones en las cuales ellas puedan realizarse.



Figura N° 7: Prueba de espectrofotometría UV VIS para flavonoides totales.

Método de Flavonoides Totales.- Para la realización de la prueba se obtuvo una concentración de 1 mg/mL de estándar Quercetina, se hizo diluciones para obtener concentraciones de 0.024, 0.1 y 0.2 mg/mL en fioles de 50 mL y se enrasaron con etanol.

Después a cada concentración se tomó 2 mL de alícuota y se agregó 6 mL de etanol + 0.4 mL del reactivo de tricloruro de aluminio al 2% + 0.4 mL del reactivo de acetato de sodio 1M y agua cantidad suficiente para 20 mL de volumen total, fue incubada por 30 minutos.

Para las muestras se tomó una alícuota de 0.5 mL y se agregó 6 mL de etanol + 0.4 mL del reactivo de tricloruro de aluminio al 2% + 0.4 mL del reactivo de acetato de sodio 1M y agua cantidad suficiente para 20 mL de volumen total. Se incubó por 30 minutos.

Para las lecturas en el espectrofotómetro UV-VIS se consideró una longitud de onda de 415 nm.

Se obtuvo 16.88 mg de quercetina / mL de extracto; es decir que los flavonoides totales se expresan en miligramos equivalentes de quercetina por mililitros de extracto.

Procedimiento Farmacológico

En el ensayo farmacológico, la administración del extracto fue por la vía oral.

En la prueba de la determinación de la actividad diurética, el extracto hidroalcohólico de *Baccharis chilco* Kunth (taya) fue administrado mediante el uso de una sonda nasogástrica a un total de 15 ratas distribuidas de la siguiente forma: tres niveles de dosis en 15 ratas albinas machos (1 000, 500 y 250 mg/kg de peso corporal), 5 ratas control positivo, tratadas con el medicamento Furosemida a la dosis de 40 mg/kg y 5 ratas control negativo, animales normales, todas de la cepa Holtzman.

Condiciones Ambientales:

Durante la duración de la prueba, los parámetros ambientales registrados en el área donde se desarrolló la prueba corresponden a los siguientes:

Temperatura (°C): 22.8°C

Humedad (%): 66%

Luz, Oscuridad: 12L: 12°

Animales de experimentación

Fueron usadas ratas albinas machos (cepa Holtzman) de 8 - 10 semanas de edad con un peso promedio de 220 - 240 g; provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales y conductuales fue de cinco días.

El total de animales para todo el ensayo fueron distribuidos de la siguiente forma:

- Un grupo de 3 ratas con una repetición y un control (total 9), para la prueba de toxicidad aguda oral y otros 5 grupos de 5 animales por cada tratamiento, con un grupo control positivo y uno control negativo (ratas normales), para el ensayo farmacológico.

Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral – Método de Clases (DL₅₀)

Se evaluó la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (taya) que fue administrado oralmente de acuerdo a la guía OECD Test 423, mediante el uso de una sonda nasogástrica a dos grupos de tres ratas cada uno (un grupo con una repetición) y un grupo control (agua destilada).

Se realizaron observaciones diarias, buscando signos o síntomas de toxicidad o efectos adversos y mortalidad en los animales de experimentación. Además, se hizo control visual del agua y alimento ad libitum.

La prueba incluyó un tratamiento del extracto hidroalcohólico con una repetición con la dosis de 2000 mg/Kg de peso corporal. El volumen de administración de la muestra diluida en agua destilada fue de 1 mL, mientras que al grupo de control se le administró el diluyente.

Después de la aplicación de la dosis, se realizó un seguimiento diario a los animales hasta 14 días para observar si hay mortalidad y si existen conductas anormales (como alteración en la actividad motriz, postración, depresión, irritabilidad) o presencia de signos de toxicidad (como salivación, convulsión, piloerección, disnea, diarrea, entre otros).

Se realiza registros de peso corporal a los animales de experimentación, antes de iniciada la prueba e interdiariamente hasta el final de la prueba (14 días). Se evaluó si hubo pérdida de peso en los animales ensayados.

En la siguiente tabla se muestran en detalle los tratamientos y sus correspondientes valores de concentración ensayados:

Tabla N° 1: Tratamiento de Toxicidad Aguda Oral de *Baccharis chilco* Kunth (Taya).

Dosis (mg / Kg rata)	N° de animales Machos	Peso por grupos (g)
2000	3	223.51
2000 (repetición)	3	227,83
Control	3	234,55

Evaluación de la Actividad Diurética – Procedimiento

El ensayo se inició con la administración de las muestras y los controles positivo y negativo, mediante sonda nasogástrica, con un volumen total de 3 ml de solución, 1ml conteniendo la dosis de cada tratamiento del extracto y 2 ml adicional de agua destilada igual para cada animal, de cada grupo. También este contenido puede calcularse usando la fórmula.

$$\text{Contenido} = \text{peso promedio (g)} \times \text{concentración (mg/kg)} \times 10^{-3} \text{ kg}$$

La prueba tuvo una duración de 21 días, en donde se evaluaron parámetros de volumen de orina recolectada, con mediciones de recolección, teniendo

los basales (al inicio de la prueba), y luego a las 24 horas, 72 horas, 7, 14 y 21 días; además la determinación de los electrolitos Na y K en las orinas colectadas de todos los animales de experimentación durante el desarrollo de la prueba. En las horas y días señalados para el posterior análisis, se colocaban a los animales en jaulas metabólicas para la colección de orina, por dos horas aproximadamente, luego de la administración oral del extracto hidroalcohólico.



Figura N° 8: Recolección de la orina de las ratas.

La prueba estuvo comprendida en total por cinco grupos experimentales.

La tabla siguiente señala los tratamientos con sus correspondientes valores de concentración ensayados:

Tabla N° 2: Tratamiento de Actividad Diurética de *Baccharis chilco* Kunth (Taya).

Grupo	Dosis	Animales
I	Control negativo:	5
II	Furosemida 40mg/Kg	5
III	EHBCK 250 mg/kg	5
IV	EHBCK 500 mg/kg	5
V	EHBCK 1000 mg/kg	5

Condiciones de Ensayo

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo en el tiempo de experimentación se registraron en los siguientes rangos: temperatura = $22 \pm 4^{\circ}\text{C}$; humedad = $< 70 \%$; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El consumo de agua y alimento fue ad libitum.

3.6. PROCESAMIENTO DE DATOS

Los resultados se representan mediante cuadros y gráficos. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de los rangos múltiples de Duncan, para determinar las medias que difieren ($p < 0.05$), para lo cual se apoyó en el programa SPSS versión 16.0. Los resultados de la toxicidad aguda se presentaron en cuadros y gráficos. Las variaciones de las medias de los pesos corporales de los ratones se presentaron en histogramas y fueron contrastados con un análisis de varianza (ANOVA), también con el mencionado paquete estadístico.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1 Resultados de la prueba de solubilidad

Tabla N°3. Resultados de la Prueba de Solubilidad.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD	
Solventes	Resultado para <i>Baccharis chilco</i> Kunth "taya"
Metanol	(++)
Etanol	(+)
Cloroformo	(-)
Agua	(+++)
Isopropanol	(-)

Leyenda:

(-) La solubilidad no se visualiza

(+) La solubilidad en menor grado

(++) La solubilidad es moderada

(+++) La solubilidad es mayor

En la **tabla N° 3** se observan los Resultados de la Prueba de Solubilidad realizados al extracto hidroalcoholico de *Baccharis chilco* Kunth (taya), siendo esta planta más soluble en agua y metanol y no es soluble en cloroformo e Isopropanol.

4.1.2 Resultados de la marcha fitoquímica

Tabla N°4: Resultados de la Marcha Fitoquímica.

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS		
Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Resultado para "Taya"
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo (++)
Almidón	Lugol	Coloración oscura (+)
Cetonas	2,4 DNPH	Formación de un anillo rojizo (++)
Aminoácidos	Ninhidrina	Color rosado (++)
IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado para "Taya"
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco (-)
	Wagner	Precipitado marrón (+++)
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja (+++)
	Scheibler	Precipitado o Color blanco (++)
	Sonneschein	Precipitado naranja (-)
	Reineckato	Color rosa (++)
Compuestos fenólicos y Flavonoides	Shinoda	Color rojo (+++)
	Cloruro férrico	Color verde (+++)
	Gelatina al 1%	Precipitado blanco (+++)
	Reacción de Bortranger	Color rojo (+)

Leyenda:

(-) La coloración o precipitado no se evidencia

(+) La coloración o precipitado se evidencia poco

(++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente

(+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

En la **tabla N° 4** se evidencian los metabolitos secundarios identificados mediante las reacciones de coloración en la marcha fitoquímica, la *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta Alcaloides Compuestos fenólicos y flavonoides y aminoácidos.

4.1.3 Resultados de la Toxicidad Aguda Oral

Tabla N°5: Resultados de la Toxicidad Aguda Oral de *Baccharis chilco* Kunth (taya).

Dosis (mg/Kg rata)	Mortalidad Machos Muertos/Total
2000	0/3
2000 (repetición)	0/3
Control	0/3

En la **tabla N° 5** se evidencia que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (taya) y el control no produjo mortalidad en la dosis administrada con una repetición durante las primeras 72 horas hasta los 14 días de evaluación de este estudio. La DL₅₀ por vía oral del extracto hidroalcohólico es mayor a 5000 mg de producto/Kg de rata (> 5.0 g/ Kg de rata).

4.1.4 Resultado de la efecto diurético

De acuerdo con los resultados obtenidos la muestra analizada del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta Actividad Diurética en el modelo estudiado, a las dosis de 500 y 1000 mg de muestra de extracto/Kg de peso corporal. Estos resultados son significativos en comparación con el control y las dosis ensayadas, tanto para el volumen de orina como para la concentración de electrolitos presentes en la diuresis.

Los datos de evaluación del volumen de recolección de orina son mostrados en la siguiente tabla:

Tabla N°6: Resultados de Actividad Diurética.

Grupo	Dosis	Volumen de orina						Dif. estadística
		0H	24H	72H	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	
I	Control negativo	0.78 [±] 0.008	0.74 [±] 0.11	0.82 [±] 0.22	0.85 [±] 0.06	1.04 [±] 0.11	0.82 [±] 0.15	
II	Furosemida 40 mg/Kg	1.52 [±] 0.36	4.52 [±] 0.42	8.46 [±] 0.74	9.38 [±] 0.71	10.42 [±] 0.39	8.92 [±] 0.58	P>0.05
III	Extracto 250 mg/Kg	0.92 [±] 0.23	1.62 [±] 0.34	1.95 [±] 0.11	2.76 [±] 0.27	3.48 [±] 0.26	4.65 [±] 0.25	P>0.06
IV	Extracto 500 mg/Kg	0.98 [±] 0.16	3.24 [±] 0.36	6.48 [±] 0.51	7.84 [±] 0.46	8.76 [±] 0.30	8.32 [±] 0.22	P>0.05
V	Extracto 1000 mg/Kg	0.84 [±] 0.05	3.76 [±] 0.23	7.58 [±] 0.36	8.52 [±] 0.24	9.54 [±] 0.34	8.86 [±] 0.24	P>0.05

P < 0,05 = No existe diferencias estadísticas con respecto al control

En la **tabla N° 6** se detallan los resultados obtenidos la muestra analizada del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta efecto Diurético en el modelo estudiado, a las dosis de 500 y 1000 mg de muestra de extracto/Kg de peso corporal. Estos resultados son significativos en comparación con el control y las dosis ensayadas, tanto para el volumen de orina como para la concentración de electrolitos presentes en la diuresis (P>0.05).

* P > 0,05 = Existe diferencias estadísticas con respecto al control

Tabla N° 7: Resultados concentración de electrolitos, Na y K.

Electrolitos										
Gr.	dosis	0H		7 días		14 días		21 días		Dif. estadística
		Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	
I	Control negativo	0.384+- 0.04	2.408+- 0.28	0.516+- 0.06	2.8+- 0.14	0.58+- 0.12	2.87+- 0.13	0.646+- 0.15	2.968+- 0.12	
II	Furosemi da 40 mg/Kg	0.362+- 0.05	2.628+- 0.20	6.464+- 0.33	5.014 +- 0.37	4.32+- 0.35	5.98+- 0.59	5.008+- 0.29	6.796+- 0.42	P>0.0 5
III	Extracto 250 mg/Kg	0.344+- 0.006	2.472+- 0.23	1.284+- 0.16	2.864 +- 0.10	1.88+- 0.11	3.11+- 0.07	2.12+- 0.18	3.432+- 0.21	P>0.0 6
IV	Extracto 500 mg/Kg	0.36+- 0.04	2.482+- 0.17	2.566+- 0.40	3.814 +- 0.25	3.12+- 0.36	4.19+- 0.15	3.682+- 0.34	4.78+- 0.35	P>0.0 5
V	Extracto 1000 mg/Kg	0.352+- 0.06	2.438+- 0.15	3.77+- 0.25	4.804 +- 0.37	3.99+- 0.17	5.15+- 0.51	4.286+- 0.28	5.46+- 0.44	P>0.0 5

En la **Tabla N° 7** se detallan los resultados concentración de electrolitos, sodio y potasio durante el ensayo de 21 días consecutivos, obteniendo como resultado la concentración en orina los siguientes resultados:

En el grupo Control negativo 0.384 a 0.04 de sodio y 2.408 a 0.28 de potasio al inicio del tratamiento y al finalizar los 21 días 0.646 a 0.015 de sodio y potasio 2.968 a 0.12 respectivamente.

En el grupo control positivo con Furosemida 40 mg/Kg se obtuvo al inicio del tratamiento para sodio 0.362 a 0.05 y para potasio 2.628 a 0.33 de potasio y

al finalizar el tratamiento 5.008 a 0.29 para sodio y 6.796 a 0.42 para potasio. Para el Extracto 250 mg/Kg se obtuvo al inicio del tratamiento de 0.344 +- 0,006 de sodio y de potasio 2.472 +- 0.23, al finalizar los 21 días de tratamiento se obtuvo 2.12 +- 0.18 de sodio y 3.432 +- 0,21 de potasio. Para el Extracto 500 mg/Kg de 0.36 +- 0.04 de sodio y potasio 2.482 +- 0.17 al inicio del tratamiento y al finalizar el mismo se obtuvo 3.682+- 0.34 de sodio y 4.78+- 0.35 de potasio. Y finalmente para el Extracto 1000 mg/Kg 0.352 +- 0.06 de sodio y 2.438 +- 0.15 de potasio al inicio del tratamiento mientras que para el final del mismo 4.286 a 0.28de sodio y 5.46 +- 0.44 d potasio respectivamente, todos los grupos con una Dif. Estadística de $P>0.05$.

4.2 CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS

Prueba de hipótesis específica 1

Ho El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) no presenta metabolitos secundarios, posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas.

H1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) si presenta metabolitos secundarios, posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas.

Para la siguiente contrastación de la hipótesis 1, hacemos referencia a la doctora Olga Lock en su libro “Investigación Fitoquímica”; nos dice que si los resultados para alcaloides son positivos para cuatro de los seis reactivos ensayados podemos decir que la muestra vegetal en análisis tiene alcaloides.

En la tabla N° 4, se expresan los resultados de la marcha fitoquímica donde se evidencian los metabolitos secundarios identificados mediante las reacciones de coloración en la marcha fitoquímica, la *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta Alcaloides Compuestos fenólicos y flavonoides y aminoácidos.

También se evidencia en demasía la presencia de flavonoides por la coloración roja eso da la presencia de Flavonas, la presencia de taninos es clara, así como también terpenos y compuestos fenólicos.

Por ende, podemos decir que la planta de la Taya contiene metabolitos secundarios, posibles responsables del efecto diurético, lo que permite señalar que se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula

Prueba de hipótesis específica 2

Ho El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) no presenta una concentración con mayor efecto diurético en ratas albinas.

H1 El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presenta una concentración con mayor efecto diurético en ratas albinas.

Para la siguiente contrastación de las hipótesis primero se observa si las concentraciones ensayadas son diferentes entre sí, para esto hacemos el estadístico de Anova (análisis de varianza), que dando de la siguiente forma:

Tabla N° 8: Análisis de Varianza (Anova)

Análisis de Varianza						
Origen de las variaciones	Suma de los cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F experi	Probabilidad	Valor crítico para F
Ent. Grupos.	251.2516	4	62.8129	596.51	1.719 E-20	2.87
Dent. Grupos.	2.106	20	0.1053			
Total	253.3576	24				

Para la interpretación de la tabla N° 8 y dar validez a una de las hipótesis planteadas tiene que cumplir con el criterio de aceptación que nos dice:

Como el nivel de significancia usado es de 0.05 y p hallado es menor a ese valor y $F_{\text{experimental}} > F_{\text{crítico}}$, por lo tanto estadísticamente existe diferencia en toda las concentraciones ensayadas.

Seguido e hace el estadístico de Tukey para saber si la concentraciones ensayadas tienen actividad diurética.

Tabla N° 9. Estadístico de Tukey

Estadístico de Tukey					
HSD	0.61	(Diferencia honestamente significativa)			
Mul	4.23	(Valor Q alfa de la prueba de Tukey)			
Mse	0.07	(Cuadrado del valor medio)			
n	5	(Tamaño de muestra de cada uno de los grupos, número de elementos de cada grupo)			
	Control Negativo	Dosis 250 mg/Kg	Dosis 500 mg/Kg	Dosis 1000 mg/Kg	Furosemida 40 mg/Kg
Control Negativo		3.83	7.5	8.04	8.1

Para la interpretación de la tabla N° 9 tenemos que ceñirnos a lo que dice el criterio de aceptación que nos dice: Valores mayores al HSD, son los que hacen la diferencia, los grupos comparados con el control negativo presentan actividad, es decir con este estadístico podemos decir que todos los grupos ensayados tienen efecto diurético.

Para saber cuál de las concentraciones tienen un mejor efecto diurético haremos el estadístico de T-Student o Wilcoxon comparando los resultados de cada concentración con la media del otro grupo en comparación.

Pero antes de elegir que estadístico usaremos, se hace primero el estadístico de Prueba de Normalidad y ajuste de Anderson Darling.

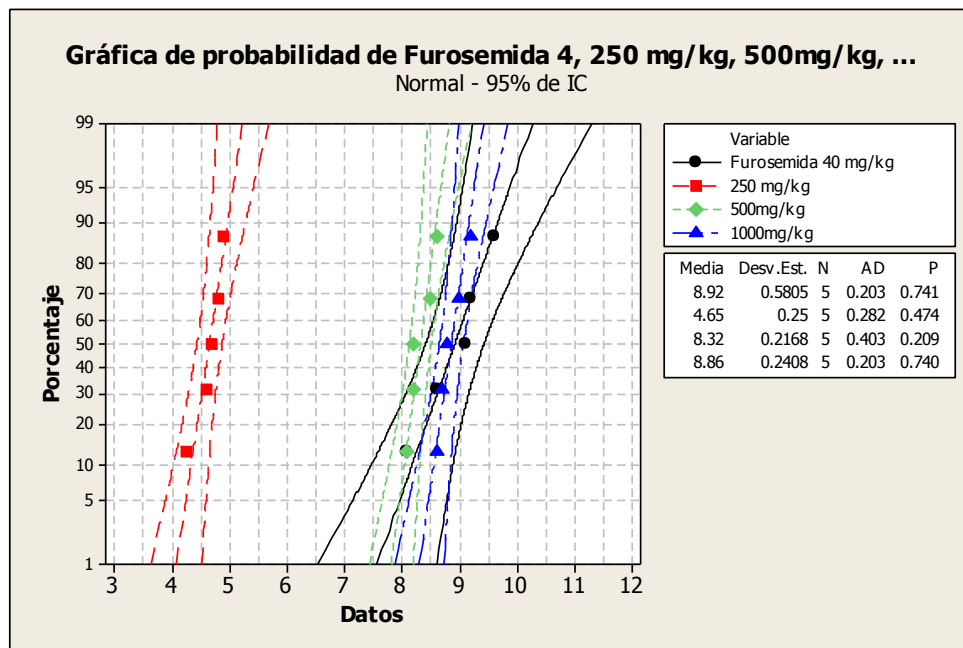


Figura N° 9: Prueba de Normalidad de Anderson Darling.

Fuente: Programa Minitab 16.

Para la interpretación de la figura N° 10 observamos que los Pvalue tanto de la Furosemida como de las concentraciones son mayores al 0.05, es decir que todos los datos guardan una distribución Normal de los datos estadísticamente hablando

Esta primera prueba de Normalidad es importante porque a partir de allí haremos el estadístico de T-Student y esto es debido a que los datos salieron Normales caso contrario e hubiera hecho el estadístico de Wilcoxon.

Tabla N° 10: T-Student de 1 muestra (500 mg/Kg).

T de una Muestra: Conc. 500 mg/Kg							
Prueba de $\mu = 8.86$ Vs > 8.86							
Variable	N	Media	Des. St	E. St Me	95% L.I.	T	P
Con. 80%	5	8.32	0.2168	0.0970	8.1133	-5.57	0.997

Interpretación de la tabla N° 10: El estadístico de T-1 muestra los resultados para una probabilidad al 95% de confianza, donde nos dice valores menores al Pvalue < 0.05 son mejores que la dosis a 1000 mg/Kg, por ende la concentración de 500 mg/Kg no es mejor que la dosis a 1000 mg/Kg.

Tabla N° 11: T-Student de 1 muestra (1000 mg/Kg).

T de una Muestra: dosis 1000 mg/Kg							
Prueba de $\mu = 8.32$ Vs > 8.32							
Variable	N	Media	Des. St	E. St Me	95% L.I.	T	P
Con. 80%	5	8.860	0.241	0.108	8.630	5.01	0.004

Interpretación de la tabla N° 11: El estadístico de T-1 muestra los resultados para una probabilidad al 95% de confianza, donde nos dice valores menores al Pvalue < 0.05 son mejores que la dosis a 500 mg/Kg, por ende la dosis de 1000 mg/Kg es mejor que la dosis a 250 mg/Kg.

Teniendo todos estos estadísticos podemos decir estadísticamente que la dosis a 1000 mg/Kg tiene mejor efecto Diurético, lo que permite señalar que se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula.

Prueba de hipótesis específica 3

Ho El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) no presenta menor efecto diurético respecto a la furosemida en ratas albinas.

H1 El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) si presenta mayor efecto diurético respecto a la furosemida en ratas albinas.

Para esta última dosis y poder decir que la mejor concentración que es la de 1000 mg/Kg es mejor que el fármaco de Furosemida 40 mg/Kg; haremos el estadístico de T-student:

Tabla N° 12: T-Student de 1 muestra

T de una Muestra: dosis 1000 mg/Kg							
Prueba de $\mu = 8.92$ Vs > 8.92							
Variable	N	Media	Des. St	E. St Me	95% L.I.	T	P
Con. 80%	5	8.860	0.241	0.108	8.630	-0.56	0.696

Interpretación de la tabla N° 12: El estadístico de T-1 muestra los resultados para una probabilidad al 95% de confianza, donde nos dice valores menores al Pvalue < 0.05 son mejores que la concentración de Furosemida 40 mg/Kg, por ende la dosis de 1000 mg/Kg No es mejor que la Furosemida 40 mg/Kg.

Para sustentar se hace la gráfica de Porcentaje:

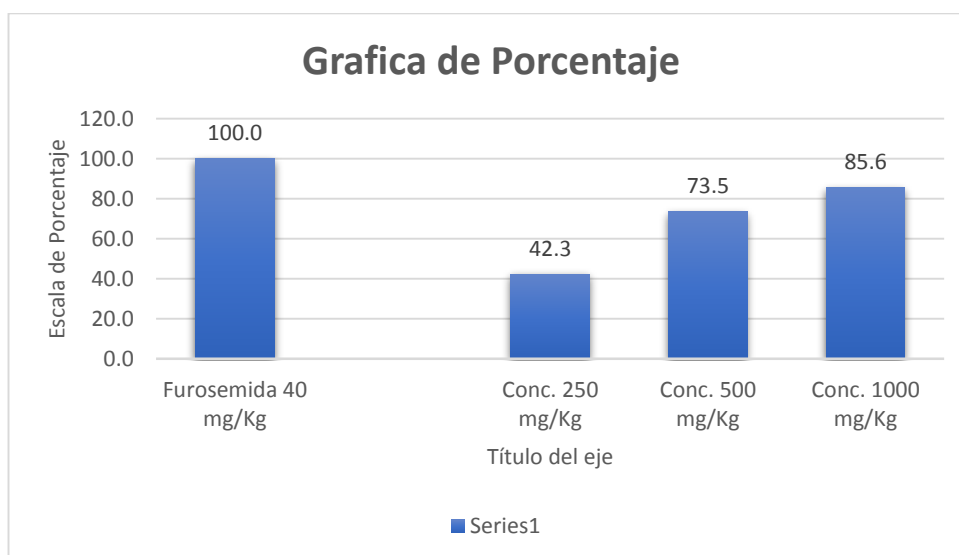


Figura N° 10: Gráfico de Porcentaje.

Para la interpretación del gráfico N° 12 observamos que los Porcentajes no superan al Control Positivo de Furosemida al 40 mg/Kg.

Por lo tanto las dosis ensayadas tienen efecto diurética pero no son mejores que el control positivo. Lo que permite señalar que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna

4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La Marcha fitoquímica practicada en la evaluación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya), indica que las hojas tienen presencia de metabolitos secundarios expresados en los compuestos fenólicos y flavonoides identificados, de manera notable.

En una investigación realizada por Naranjo A., (2013) ⁽¹⁷⁾, de título “Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de *Jamaica Hibiscus sabdariffa* L”. Cuyo objetivo fue de conocer el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.

Los resultados del estudio fueron: La diuresis del Blanco es 2 mL, el control positivo (furosemida) da 8 mL, los polifenoles 10, 20, 30, 40, 80 mg/Kg dan 1.6; 3.5; 2.9; 1.9; 0.9 mL de orina respectivamente, los resultados obtenidos al determinar la presencia fenólicos y flavonoides en evidencia notables fueron atribuidas como causante de la actividad diurética. Estos resultados frente a los resultados encontrados en el presente estudio estarían corroborando los objetivos de la investigación en el sentido de que extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) tiene actividad diurética.

De otro lado, en un estudio realizado por Allauca, A. en el 2017, ⁽¹⁸⁾ de título: “Actividad diurética del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las flores de cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) sobre ratas” (*Rattus norvegicus*).

Los resultados de la actividad diurética obtenidos demostraron que el efecto diurético se produjo a la dosis de 500 y 1000 mg/kg de peso corporal a un control de furosemida de 40 mg/kg. Los resultados obtenidos de la muestra obtenida del extracto hidroalcohólico de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) presentaron actividad diurética, de acuerdo con el modelo estudiado a las dosis de 500 y 1000 mg/kg de peso corporal. Resultados significativo en comparación a las dosis ensayadas y al control con Furosemida 40 mg/ kg. Estos resultados difieren de los obtenidos por Allauca, el cual determinó que la dosis de 25 mg/kg de extracto hidroalcohólico no presenta diferencias significativas con respecto a la referencia en relación al volumen de orina excretado, a un control de Furosemida 10 mg/kg de peso corporal.

Asimismo, Naranjo en su estudio, evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador, en relación determinación de la actividad diurética demostró 20mg/Kg por peso corporal. Estos índices difieren notablemente en el sentido de la cantidad de dosis adecuada para la presencia de la actividad diurética, lo cual estaría indicando la necesidad de desarrollar estudios con mayor rigor a fin de que se puedan dilucidar las diferencias.

En el estudio de toxicidad aguda oral, la administración en ratas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya) en la dosis de 2000 mg/kg de peso corporal no produjo mortalidad, y no se presentaron signos de toxicidad, sin cambios comportamentales durante los 14 días de observación. Se presentó aumento e incremento en el peso corporal y en el análisis macroscópico no se registraron lesiones algunas. Estos resultados obtenidos se corroboran con los estudios de Naranjo y Allauca, en el sentido de que ninguno de los trabajos encontraron presencia de toxicidad alguna.

CAPÍTULO V:

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (taya) son: alcaloides, compuesto fenólicos, flavonoides como posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas *Baccharis chilco* Kunth (taya) a dosis de 1000 mg/kg presenta mayor efecto diurético en ratas albinas.
3. El efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (taya) fue menor con un 85.6% en comparación con el fármaco de Furosemida al 100%.

5.2. RECOMENDACIONES

1. Los resultados obtenidos permiten afirmar con respecto al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya), realizar estudios posteriores para ofrecer como alternativa natural.
2. Fomentar la investigación en temas referentes al uso de plantas medicinales a fin de rescatar los aspectos favorables que puedan utilizarse en bien de la salud, como en este caso el *Baccharis chilco* Kunth (Taya), con el propósito de precisar su grado de evidencia, como posibles responsables del efecto diurético.
3. Considerar que el extracto hidroalcohólico de la especie de *Baccharis chilco* Kunth (Taya), podría contribuir como un componente alternativo en la elaboración de productos diuréticos.
4. Así mismo motivar a los estudiantes a realizar más trabajos de investigación en productos naturales, ya que existen una gran variedad de especies vegetales que aún no han sido completamente estudiadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Burg MB. Transporte de cloruro tubular y el modo de acción de algunos diuréticos. *Kidney Int* 1976; 9: 189-97.
2. Feraille E, Doucet A. Transporte de sodio dependiente de sodio-potasio-adenosinatrifosfatasa en el riñón: control hormonal. *Physiol Rev* 2001; 81:345-418.
3. Sangma TK, Meitei UD, Sanjenbam R, Khumbongmayum S. Propiedad diurética de [9] extracto acuoso de hojas de *Mimosa pudica* Linn. en ratas albinas experimentales. *Revista de productos naturales*. 2010; 3:172-78.
4. Soler B, Porto M. Experiencia cubana en el estudio y aplicación de medicamentos herbarios. *Rev Cubana de Plant Med* 1997; 2(1):30-34
5. Medina, F. Hipertensión arterial. *RevSoc Per Cardiol*. 38(1): 5. 2012)
6. Pérez M, Morón F. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*. 2011; 6(2): 35-40.
7. Palacios J. Plantas medicinales nativas del Perú. 2a Edición. Lima: Concytec. Perú; 1997.
8. Rondon, N. Compendio en nefrología clínica; 20013. Recuperado el 19 de junio del 2018 de: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/32982/1/compendiorefrologia.pdf>
9. Rojas F. Composición química y determinación del efecto antiinflamatorio de las hojas de *Baccharis dracunculifolia* “yana taya” en ratas albinas. Ayacucho - 2009. (Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica). Perú; Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en Ayacucho; 2009.
10. Flores E. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. “quimsacuchu”. (Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica). Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2010.

11. Justil H, Arroyo J, Valencia J. Extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas. *AnFacmed.*; 71(2):88-96.
12. Martínez S, Terrazas E, Alvarez T, Mamani O, Vila J, Mollinedo P. Actividad antifúngica in vitro de extractos polares de plantas del género *Baccharis* sobre fitopatógenos. *Revista Boliviana de Química*. 2010; 27(1):13-18.
13. Salazar W, Cárdenas J, Núñez M, Fernández I, Villegas L, Pacheco L, Untiveros G. Estudio fitoquímico y de la actividad antihelmíntica de los extractos de *Euphorbia huanchahana* y *Baccharis salicifolia*. *Rev Soc Quím Perú*. 2007; 73(3):150-157.
14. Hoyos M y Yien M. Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio (Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
15. Zampini I, Isla M, Schmeda-Hirschmann G. Compuestos antimicrobianos y antioxidantes de la infusión y extracto metanólico de *Baccharis incarum* (Wedd.) Perkins. *J. Chil. Chem. Soc.* 2009; 54(4): 447-481.
16. Naranjo, A. Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador (Tesis para obtener el título de bioquímica farmacéutica). Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
17. Allauca, A. Determinación de la actividad diurética de *Oreocallis grandiflora* en ratas (*Rattus norvegicus*) (Tesis para obtener el título de bioquímica farmacéutica). Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2017.
18. Mostacero J, Mejía F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Editorial Libertad EIRL. Trujillo – Perú; 1993.
19. Dostert N, Roque J, Brokamp G, Cano A, Torre MIL, Weigend M. Factsheet: Datos botánicos de Tara. 1ra ed. Lima - Perú; 2009.
20. Perú biodiverso, Chávez M. La cadena de valor de la tara en la región Cajamarca: Análisis y lineamientos estratégicos para su desarrollo. 1ra ed; 2013.
21. Flores C. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* taya sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 [Tesis

- para optar el grado de bachiller en estomatología]. Trujillo – Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
22. Tolentino J. Efecto del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis para optar el título de Biólogo - Microbiólogo]. Trujillo-Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2012.
 23. Fernández A. Estudio de las propiedades antioxidante de un extracto supercrítico de la vaina de la tara (*Caesalpinia spinosa*) para su uso potencial como aditivo alimentario [Memoria para optar al título del ingeniero en alimentos]. Chile: Universidad de Chile; 2008.
 24. Alvarado J. 2009. Apuntes de farmacología. Ediciones Apuntes médicos del Perú. Vol.4. Lima-Perú.
 25. Flórez J. 1997. Farmacología humana. 3a Edición. Editorial Masson S.A. Barcelona – España.
 26. Clark M, Finkel R, Rey J, Whalen K. Reseñas ilustradas de Lippincott: Farmacología. 5a ed. Wolters Cluwer Health; Lippincott Williams & Wilkins. New Jersey; 2012.
 27. Goodman G, Hardman J, Limbird. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A. México DF; 2003.
 28. Malgor L, Valsecchia E. Farmacología médica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Ediciones Donato/FARM. 1999; 1.
 29. Cotillo P, Rojas L. Métodos Farmacológicos en la Investigación de los Productos Naturales. Lima: CONCYTEC; 1990.
 30. López Casamayor E. Estudio Fitoquímico y aproximación Genética en especies de la sección *Plinthine* del género *Arenaria* (Tesis) España: Universidad de Granada Departamento de Botánica; 2007.

ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia

Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya).

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>General</p> <p>¿Tendrá efecto diurético el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) en ratas albinas?</p> <p>Específicos</p> <p>1. ¿Cuáles son las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) como posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas?</p> <p>2. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) con mayor efecto diurético en ratas albinas?</p> <p>3. ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> kunth (Taya), tendrá mayor efecto diurético respecto a la furosemida en ratas albinas?</p>	<p>General</p> <p>Determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) tiene efecto diurético en ratas albinas.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>1. Identificar las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) como posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas.</p> <p>2. Determinar la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) con mayor efecto diurético en ratas albinas.</p> <p>3. Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) con respecto a la Furosemida en ratas albinas.</p>	<p>General</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) posee efecto diurético en ratas albinas.</p> <p>Específicas</p> <p>1. Las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> kunth taya son los posibles responsables del efecto diurético en ratas albinas.</p> <p>2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) presenta una dosis con mayor efecto diurético en ratas albinas.</p> <p>3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) presenta mayor efecto diurético respecto a la furosemida en ratas albinas.</p>	<p>Variable independiente</p> <p>•Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya).</p> <p>Indicadores</p> <p>•Dosis de 250, 500 y 1000 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya).</p> <p>Variable dependiente</p> <p>•Efecto diurético.</p> <p>Indicadores</p> <p>•Volumen de orina.</p> <p>•Eficacia diurética.</p> <p>•Variación de peso corporal.</p>	<p>Tipo de investigación: Básica experimental</p> <p>Población: Planta de <i>Baccharis chilco</i> Kunth (Taya) recolectado en el distrito La Unión, provincia 2 de mayo, departamento de Huánuco</p> <p>Muestra:</p> <p>- 3 kg de las hojas de <i>Baccharis chilco</i> kunth (Taya) recolectadas en el distrito de la unión para la elaboración del extracto hidroalcohólico.</p> <p>Diseño experimental. Será completamente aleatorio:</p> <p>-Grupo I (Blanco): Administración P.O. de solución de cloruro de sodio 0.9% en 5 mL de agua destilada.</p> <p>-Grupo II (Control): Administración P.O. de furosemida a una dosis de 40 mg/Kg de peso.</p> <p>-Grupo III: Administración P.O. de extracto hidroalcohólico a una dosis de 250 mg/Kg de peso.</p> <p>-Grupo IV: Administración P.O. de extracto hidroalcohólico a una dosis de 500 mg/Kg de peso.</p> <p>-Grupo V: Administración P.O. de extracto hidroalcohólico a una dosis de 1000 mg/Kg de peso.</p> <p>Análisis estadístico. Se utilizará el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de los rangos múltiples de Duncan, para determinar las medias que difieren ($p < 0.05$), para lo cual nos apoyaremos del programa SPSS versión 16.0.</p>

--	--	--	--	--

ANEXO 2: TESTIMONIOS FOTOGRAFICOS



Figura N°1: Recolección de la muestra



Figura N°2 y 3: Secado de las hojas de *Baccharis chilco Kunth* (Taya) en la estufa a 40 °C.



Figura N°4 y 5: Triturado de las hojas de *Baccharis chilco Kunth* (Taya) y macerado hidroalcohólico



Figura N°6 y 7: Filtrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco Kunth* (Taya)



Figura N°8 y 9: Filtrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya)

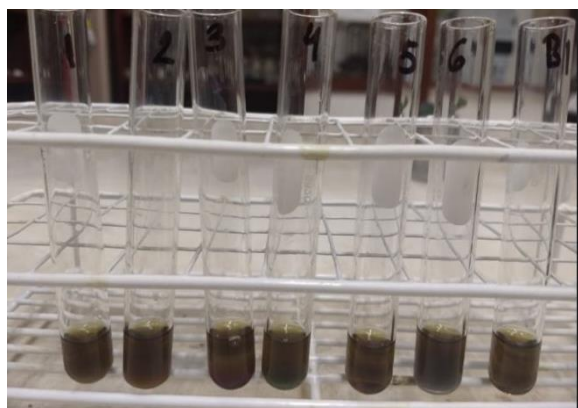


Figura N°8 y 9: Filtrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya)



Fotografía N°10: Prueba de Solubilidad hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis chilco* Kunth (Taya)

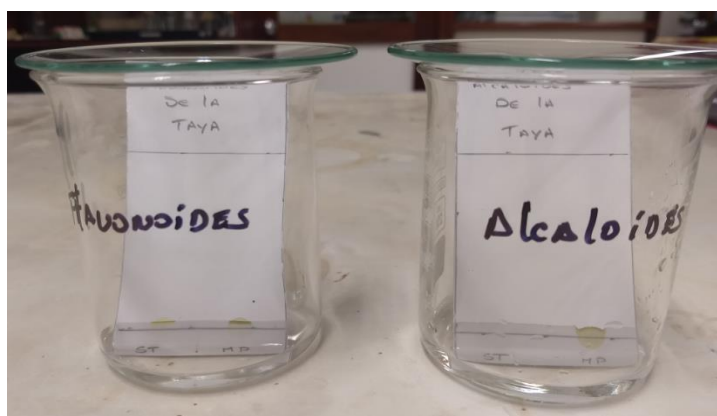


Figura N°11: Cuantificación de Flavonoides Totales por UV-VIS





Figura N°12 y 13: Cromatografía en capa fina de las hojas de la Taya – (Flavonoides y Alcaloides)



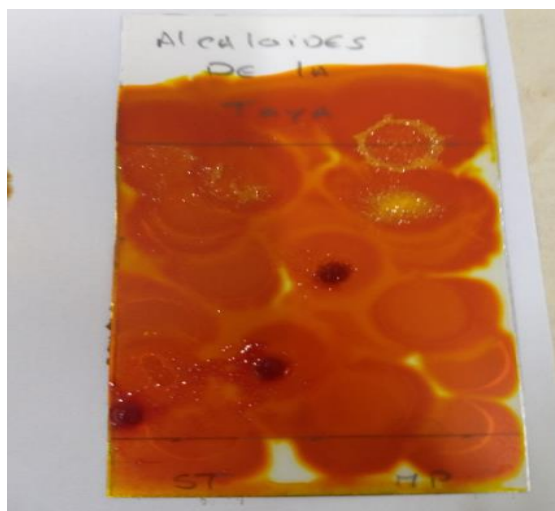


Figura N°14, 15, 16 y 17: Cromatografía en capa fina de las hojas de la Taya – (Flavonoides y Alcaloides)



Fotografía N°19 y 20: Pesado de las ratas albinas cepa Holtzman



Fotografía N°21: Inoculación del extracto de la Taya



Fotografía N°22,23 y 24: Recolección de orina

ANEXO 5: Constancia taxonómico de la planta

  UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
 MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 115-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (ramas con inflorescencia), recibida de **Flor SILVA VEGA y Judith LUICHO SOLORZANO**; de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Baccharis chilco*** Kunth.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Baccharis*

ESPECIE: *Baccharis chilco* Kunth

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 09 de abril de 2018

 
Mg. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: museohn@unsm.edu.pe
<http://museohn.unsm.edu.pe>



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CERTIFICADO

Lima, 20 de Abril del 2018

Mediante la presente se certifica que los 31 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, machos con un promedio de peso de 220 g, adquiridos el 20 de abril del 2018, se encuentran en estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,