

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**



**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS  
Y BIOQUÍMICA**

**“EFECTO ANTILITIASIS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE  
LAS HOJAS DE *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta EN RATAS  
ALBINAS CEPA HOLTZMAN”**

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

**TESISTAS:**

Puente Cabezas, Shellel Sahory

Vilcayauri Delgado, Ana María

**ASESOR:**

Mg. QF. Henry Montellanos Cabrera

**FECHA DE SUSTENTACION: 16 DE MARZO DE 2018**

**LIMA – PERÚ  
2018**

**TÍTULO:**

**“EFECTO ANTILITIASIS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS  
HOJAS DE *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta EN RATAS ALBINAS CEPA  
HOLTZMAN”**

## **DEDICATORIA**

A mi amada hija Dayana, por su amor y paciencia. A mis queridos padres Marcelina y Ormino, cuyo ejemplo, amor y confianza me impulsan a esforzarme cada día. A mi hermana Mercedes por su afecto y apoyo.

Ana María Vilcayauri.

A Dios por darme la vida, por iluminarme y estar siempre a mi lado para seguir adelante. A mis padres Rosana y José por su comprensión, su inmenso apoyo constante y sacrificio incondicional por educarme y ser una persona de bien.

Shellel Puente.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todo poderoso quien me ilumina con sabiduría para poder lograr mis metas, a mi asesor Mg. QF. Henry Montellanos Cabrera por su apoyo y dedicación.

Ana María Vilcayauri.

A todas las personas que fueron parte del camino de mi formación universitaria hasta lograr mis objetivos.

Shellel Puente Cabezas.

## ÍNDICE GENERAL

|  |          |
|--|----------|
| Dedicatoria  |          |
| Agradecimiento                                     |          |
| Índice de tablas                                   |          |
| Índice de figuras                                  |          |
| Índice de anexos                                   |          |
| Resumen  |          |
| Abstract   |          |
| <b>INTRODUCCION</b>                                | <b>1</b> |
| <b>CAPÍTULO I:</b>                                 | <b>3</b> |
| <b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>               | <b>3</b> |
| 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA       | 3        |
| 1.2. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA     | 4        |
| 1.2.1. PROBLEMA GENERAL                            | 4        |
| 1.2.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS                       | 5        |
| 1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN                 | 5        |
| 1.3.1. Objetivo general                            | 5        |
| 1.3.2. Objetivos específicos                       | 5        |
| 1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN             | 5        |
| <b>CAPÍTULO II:</b>                                | <b>7</b> |
| <b>2. MARCO TEÓRICO</b>                            | <b>7</b> |
| 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN              | 7        |
| 2.1.1. ANTECEDENTES NACIONALES                     | 7        |
| 2.1.2. ANTECEDENTES INTERNACIONALES                | 8        |
| 2.2. BASES TEÓRICAS                                | 9        |
| 2.2.1. <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta     | 9        |
| 2.2.2. LITIASIS RENAL                              | 16       |
| 2.3. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS                      | 27       |
| 2.3.1. HIPÓTESIS GENERAL                           | 27       |
| 2.3.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS                       | 27       |
| 2.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES | 27       |
| 2.5. VARIABLES DE ESTUDIO                          | 28       |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.6. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....                           | 28        |
| <b>CAPITULO III.....</b>                                   | <b>32</b> |
| <b>3. METODOLOGÍA .....</b>                                | <b>32</b> |
| 3.1. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN .....                   | 32        |
| 3.1.1. TIPO DE LA INVESTIGACIÓN .....                      | 32        |
| 3.1.2. NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN .....                     | 32        |
| 3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....                      | 32        |
| 3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN.....          | 33        |
| 3.3.1. POBLACIÓN.....                                      | 33        |
| 3.3.2. MUESTRA .....                                       | 33        |
| 3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS ..... | 33        |
| 3.4.1. 3.4.1 TÉCNICA .....                                 | 33        |
| 3.4.2. INSTRUMENTOS.....                                   | 35        |
| 3.5. MATERIALES Y REACTIVOS.....                           | 36        |
| 3.6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....                       | 37        |
| 3.7. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS DE ANÁLISIS DE DATOS. ....      | 45        |
| <b>CAPITULO IV.....</b>                                    | <b>46</b> |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                  | <b>46</b> |
| 4.1. RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....                   | 46        |
| 4.1.1. Resultado de la Marcha Fitoquímica.....             | 46        |
| 4.1.2. Resultados de la prueba de solubilidad.....         | 47        |
| 4.1.3. Resultados de la cromatografía. ....                | 48        |
| 4.1.4. Resultados del ensayo farmacológico.....            | 48        |
| 4.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....                         | 53        |
| <b>CAPÍTULO V.....</b>                                     | <b>56</b> |
| <b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>             | <b>56</b> |
| 5.1. CONCLUSIONES: .....                                   | 56        |
| 5.2. RECOMENDACIONES: .....                                | 57        |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                    | <b>58</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>  | <b>62</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Tabla N° 1 | Materiales y Reactivos usados en el proceso experimenta   | 36 |
| Tabla N° 2 | Pruebas empleadas para identificación de metabolitos secundarios  | 39 |
| Tabla N° 3 | Pruebas empleadas para identificación de metabolitos primarios  | 40 |
| Tabla N° 4 | Tratamiento de Actividad Antilitiasis “Huamanpinta”.  | 44 |
| Tabla N° 5 | Identificación de metabolitos secundarios en extracto hidroalcohólico de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta                  | 47 |
| Tabla N° 6 | Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta.                                    | 49 |
| Tabla N° 7 | Resultados de Actividad Anti litiasis.  | 51 |
| Tabla N° 8 | Análisis estadístico del peso de los riñones.   | 52 |
| Tabla N° 9 | Resultado del control del peso del riñón derecho en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.                | 53 |
| Tabla N°10 | Resultado de la varianza del peso del riñón derecho en los animales experimentales durante el proceso experimental.               | 53 |
| Tabla N°11 | Resultado del análisis de varianza del peso del riñón derecho en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.   | 53 |
| Tabla N°12 | Resultado del control del peso del riñón izquierdo en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.              | 54 |
| Tabla N°13 | Resultado de la varianza del peso del riñón izquierdo en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.           | 54 |
| Tabla N°14 | Resultado del análisis de varianza del peso del riñón izquierdo en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento. | 54 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura N°1 Rutas de síntesis de compuestos fenólicos.....                       | 13 |
| Figura N°2 Origen biosintético de Flavonoides y compuestos<br>relacionados..... | 15 |
| Figura N°3 Prueba de Solubilidad del extracto seco de “Huamanpinta” .....       | 40 |
| Figura N°4 Necropsia de todos ellos para la extracción de los riñones.....      | 45 |



## ÍNDICE DE ANEXOS

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Anexo N° 1 | Matriz de consistencia.....  | 65 |
| Anexo N° 2 | Metabolitos Secundarios.....   | 66 |
| Anexo N° 3 | Metabilitos Primarios.....   | 68 |
| Anexo N° 4 | Constancia de Práctica .....   | 69 |
| Anexo N° 5 | Constancia Botánica .....  | 70 |
| Anexo N° 6 | Testimonio fotográfico .....   | 71 |
| Anexo N° 7 | Cuantificación de Flavonoides totales por espectrofotometría<br>UV-VIS ..... | 81 |
| Anexo N° 8 | Cálculos de Flavonoides Totales en Excel .....                               | 82 |

## Resumen

El estudio tiene como objetivo principal el de comprobar el efecto antilítico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta en ratas albinas cepa Holtzman. Metodología: diseño experimental tipo longitudinal y aplicada nivel exploratorio y descriptivo. Población: hojas de *Chuquiraga spinosa* - huamanpinta, recolectados en el departamento de Junín, provincia de Jauja. Ratas albinas cepa Holtzman, muestra extracto hidroalcohólico de huamanpinta, técnicas: estadístico Anova. Resultados: El extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presenta efecto anti litiasis en el modelo estudiado, a las dosis de 500 y 1000 mg de extracto/Kg de peso corporal, expresado en la reducción del peso del órgano del riñón, ante la formación de cristales de oxalato de calcio. Conclusiones. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presenta actividad anti litiasis en comparación entre el control de Etilenglicol 1% y las dosis ensayadas. El extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presenta efecto anti litiasis, a las dosis de 500 y 1000 mg de extracto/Kg de peso corporal, expresado en la reducción del peso del órgano del riñón, ante la formación de cristales de oxalato de calcio. El screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta determinó la presencia de flavonoides (+++) compuestos fenólicos (+++), y alcaloides (+++)

**Palabras clave:** efecto antilítico, extracto hidroalcohólico, Huamanpinta, cepa Holtzman

## Abstract

The main objective of the study was to verify the antilithic effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Chuquiraga spinosa* (Huamanpinta) in albino rats Holtzman strain. Methodology; design: experimental type: longitudinal and applied level: exploratory and descriptive. Population: ojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta, collected in the department of Junín, province of Jauja. Rats albino holtzman strain, shows hydroalcoholic extract of huamanpinta, techniques: statistical anova. Results: The hydroalcoholic extract of *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presents anti-lithiasis effect in the studied model, at doses of 500 and 1000 mg of extract / Kg of body weight, expressed in the reduction of the weight of the organ of the kidney, before the formation of calcium oxalate crystals. Conclusions The hydroalcoholic extract of the leaves of *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presents antilithic activity in comparison between the control of Ethylene glycol 1% and the doses tested. The hydroalcoholic extract of *Chuquiraga spinosa* Huamanpinta "presents antilithiasis effect, at doses of 500 and 1000 mg of extract / Kg of body weight, expressed in the reduction of the weight of the organ of the kidney, before the formation of calcium oxalate crystals. The phytochemical screening of the hydroalcoholic extract of *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta determined the presence of flavonoids (+++) phenolic compounds (+++), and alkaloids (+++)

**Keywords:** antilithic effect, hydroalcoholic extract, Huamanpinta, Holtzman strain.

# INTRODUCCION

El estudio propuesto tiene el propósito de obtener información, explicar y aportar conocimiento novedoso sobre aspectos de la vasta diversidad de especies vegetales, que poseen propiedades terapéuticas de utilidad e importancia para la salud, hecho que en estos últimos años, está promoviendo un incremento en las investigaciones científicas, que buscan comprobar, corroborar o ampliar los conocimientos de la medicina tradicional o popular. (1) Lo cual deriva en la búsqueda creciente y obtención de drogas alternativas que presenten menos efectos colaterales que los fármacos convencionales y de ser posible, se conviertan en productos básicos y útiles para mejorar las condiciones socioeconómicas de las comunidades que usan, producen y comercializan plantas medicinales nativas. (2)

Siendo los metabolitos secundarios de las plantas medicinales los responsables de sus diversos efectos terapéuticos que se les atribuyen, se hace necesario extraerlos, purificarlos y elucidar su estructura química empleando métodos modernos de la fitoquímica. La *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta es una especie con uso terapéutico de la familia de las Asteraceae, crece en los andes del Perú sobre los 3500 msnm, y es utilizado como antiinflamatorio, analgésico, diurético, anti prostático, cáncer genitourinario, entre otros. (3)

La litiasis renal, es una enfermedad causada por la presencia de cálculos en el interior de los riñones o de las vías urinarias. La manifestación más frecuente de la enfermedad litiásica es la crisis de dolor renoureteral aguda o cólico nefrítico, secundario al desplazamiento de la litiasis en la vía excretora, donde ocasiona obstrucción. (Lancina FI, Arrabal M, 1990). La uropatía obstructiva y los cambios morfo-funcionales que la acompañan son su complicación más frecuente. La ausencia de resolución de la obstrucción en un periodo de tiempo limitado puede determinar el establecimiento de un deterioro de función renal, que en circunstancias concretas progrese a la insuficiencia renal crónica. (4)

Por tal motivo la presente investigación se sustenta en la siguiente interrogante ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta

poseerá efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman? En este contexto el desarrollo del estudio presenta la siguiente estructura:

En el capítulo I se realiza el planteamiento y formulación del problema de estudio, los objetivos y la justificación.

En el capítulo II se presentan los antecedentes nacionales e internacionales, y las bases teóricas que corresponden a las variables de estudio respectivamente, así mismo se realiza la definición de términos relacionados al estudio.

En el capítulo III se plantea la metodología de la investigación, se explican las técnicas e instrumentos de recolección de datos y fundamento de los equipos utilizados en la investigación. Así mismo el procesamiento y análisis de los datos estadísticos.

En el capítulo IV se propone la discusión de los resultados y se realiza la comprobación de la hipótesis.

Y como última parte de la investigación se presenta el Capítulo V donde se encuentra las conclusiones, recomendaciones y las referencias bibliográficas.

# CAPÍTULO I:

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Existe una gran variedad de especies vegetales de interés e importancia medicinal, entre estas se encuentran las plantas del género *Chuquiraga* (Asteraceae), de las que su uso terapéutico ha sido respaldado por investigaciones y estudios científicos, realizados en varios modelos experimentales, mediante los cuales se han comprobado algunos efectos biológicos y farmacológicos ya descritos y tratados en la literatura especializada.

La investigación sobre plantas medicinales ha adquirido relevancia por la pérdida acelerada del conocimiento de la medicina tradicional y la reducción cada vez más creciente, de la disponibilidad de muchas especies útiles, como consecuencia directa de la deforestación, degradación de los bosques tropicales y pérdida de otros hábitats naturales. “La *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta, que crece en los andes del Perú es considerada como una especie nativa muy útil para el desarrollo de nuevos medicamentos. La actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora ha despertado en los últimos años un gran interés científico en el área de la farmacología por la capacidad de ciertos metabolitos secundarios de interferir en la evolución de enfermedades.” (5)

Los estudios señalan que la litiasis urinaria afecta del 5% al 15% de la población mundial, ésta frecuencia oscila debido principalmente a factores ambientales en las diferentes regiones del planeta. “La carga de enfermedad por litiasis es considerable en los diversos sistemas de salud, básicamente por su alta recurrencia y por los costos considerablemente elevados de diagnóstico y

tratamiento. Además de los costos generados al sistema de salud, se producen costos a nivel individual como a nivel social para los pacientes y sus familias.” (6)

De acuerdo al estudio de Neyra A., en el Perú, la enfermedad de la litiasis urinaria está considerada entre las tres primeras causas por la que los pacientes asisten a un centro de salud o concurren a la consulta médica. “Se estima que la prevalencia de litiasis renal se encuentra entre el 5% al 10% de la población. La frecuencia de recidiva de litiasis renal, depende del tiempo transcurrido, de tal modo que se encuentra en 10% para el primer año, 35% a los 5 años y 50% a los 10 años.” (6)

De otro lado se considera que de todas las complicaciones de esta patología, la de mayor riesgo, es el desarrollo de la insuficiencia renal; “estudios de seguimiento a largo plazo en pacientes con litiasis no tratada muestran que la falla renal se instaura alrededor de los 7 años en alrededor del 30% de los pacientes, lo cual se ha asociado a una mortalidad importante.” (7)

En esta orientación la presente investigación tiene como finalidad identificar los metabolitos secundarios de la *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta y mediante un ensayo farmacológico demostrar su actividad terapéutica frente a la litiasis inducida en ratas, para de este modo ofrecer un tratamiento alternativo ante la problemática descrita anteriormente, así mismo contribuir con nueva información y así favorecer al conocimiento científico, brindar guía de entendimiento y explicar los beneficios de las plantas medicinales.

## **1.2. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1. PROBLEMA GENERAL**

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta poseerá efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman?

## **1.2.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS**

1. ¿En qué concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta posee efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman?
2. ¿Qué metabolitos secundario presenta en mayor concentración el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta?

## **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.3.1. Objetivo general**

Comprobar el efecto antilítico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta en ratas albinas cepa Holtzman.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

1. Precisar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta con efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman.
2. Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta.

## **1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

El género *Chuquiraga* (Asteraceae) presenta diversas especies, las cuales han sido estudiadas por distintos investigadores, los que han demostrado que presentan buenas propiedades farmacológicas, tiene efecto antiinflamatorio y el efecto antioxidante, sin embargo no existen estudios sobre el efecto antilítico. Motivo por el cual se justifica el presente estudio, que pretende evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* –Huamanpinta.



Cabe mencionar, que la *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta es utilizada por sus propiedades farmacológicas.

Además, el uso de fitofármacos del estudio de dicha planta como una alternativa válida para implementar una política de atención primaria de salud por su bajo costo y su uso tradicional por lo que se debe garantizar la calidad requerida y una eficacia probada.

La investigación tiene utilidad práctica, porque a partir de los resultados encontrados, otros investigadores pueden tomar como referencia o antecedente para otros estudios similares y seguir contribuyendo al estudio de las propiedades de la planta mencionada, del mismo modo el análisis de los resultados se suman al conocimiento sobre el tratamiento y prevención de la litiasis que es una enfermedad con mucho impacto en nuestro país y que en muchos casos el tratamiento farmacológico convencional no es suficiente para combatirla.

## CAPÍTULO II: 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

#### 2.1.1. ANTECEDENTES NACIONALES

**Mallma y Vega (2015).** Desarrollaron el estudio: “Efecto curativo del extracto hidroalcohólico de hojas de *Chuquiraga spinosa* Less –intipasapra- en la hiperplasia prostática benigna inducida por alcohol etílico en ratas”. Universidad Wiener. Detectaron a través del análisis fitoquímico compuestos fenólicos: flavonoides y taninos; grupo amino libre, carbohidratos, azúcares reductores, alcaloides, esteroides y/o triterpenos, y saponinas esteroidales. Reportaron que el tratamiento con mayor eficacia fue a dosis de 200 mg/Kg. “Se determinó la dosis letal media a 5000 mg/Kg por vía intragástrica. Se concluyó que la *Chuquiraga spinosa* Less “intipasapra” presenta efecto curativo por vía intragástrica en la hiperplasia prostática benigna, y se considera hepatotóxico y nefrotóxico a dosis de 5000 mg/Kg de peso corporal.” (8)

**Condorhuamán, et al. (2016).** Estudiaron la “Actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “huamanpinta”, se evaluó la actividad antioxidante mediante el método del difenilpicrilhidrazilo (DPPH). Identificaron flavonoides, triterpenos, esteroides, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas. Se detectó que “La actividad antioxidante *in vitro* de 86,4% (300 µg/mL) e *in vivo* aumentan la actividad de las enzimas antioxidantes y reduce la lipoperoxidación. La mayor actividad antiinflamatoria del extracto fue a 300 mg/kg (39,1%) y la

actividad inmunomoduladora fue a 200 mg/kg (48,23%). Se concluyó que el extracto clorofórmico presenta actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomoduladora.”(9)

**Ramírez E. (2014)**, realizó el estudio: “Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “huamanpinta”- UNMSM, en ratas Holtzman, se determinó la actividad antioxidante in vitro por el método del difenilpicrilhidrazil (DPPH). Se identificó flavonoides, triterpenos, esteroides, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas. Reporta que la DL<sub>50</sub> se ubica por encima de 2000 mg/kg, considerándose el extracto como no tóxico y no Clasificado. Y “la mayor eficiencia antiinflamatoria fue a 300 mg/kg (39.1 %); y la eficiencia Inmunomoduladora de 48.23% (200 mg/kg) respectivamente. Concluyendo que la *Chuquiraga lessing* huamanpinta manifiesta actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora, que la ubica como una especie nativa muy importante en la línea de los recursos naturales.” (10)

### **2.1.2. ANTECEDENTES INTERNACIONALES**

**Dueñas A. et. Al (2016)**. Realizaron el estudio: “Determinación de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de *Chuquiraga jussieui* j.f gmel usando la lixiviación de muestras sólidas” Universidad técnica de Manabí, Ecuador. Utilizaron las cantidades de 15 y 20 g de material vegetal seco y molido de las partes aéreas de la planta con un tamaño de partícula de 3 mm en 200 mL de agua tratada, con velocidades de agitación de 60 y 100 rpm a tiempos de contacto de 30 y 45 min. Detectaron que “en todas las interacciones la variable de respuesta fue el contenido de compuestos fenólicos Y establecieron que las variables que inciden significativamente en el proceso de extracción sólido líquido fueron la concentración y el tiempo de contacto, determinándose los valores de los mismos.” (11)

**Dueñas R. et al (2014)**, realizaron la evaluación del efecto hemolítico y antioxidante del extracto acuoso de la *Chuquiraga jussieui* utilizando el ensayo de hemólisis del eritrocito humano producido por el dodecilsulfato de sodio. Evaluaron cinco concentraciones del extracto (5n, 15, 30, 60 y 120 mg/L). Se validó el efecto hemolítico producido por el dodecilsulfato; se obtuvo la concentración de hemoglobina en la suspensión utilizando espectroscopia ultravioleta visible, y se determinó el efecto antioxidante del extracto de *Chuquiraga jussieui*. “Se obtuvo una concentración de hemoglobina media (CH50) del dodecilsulfato de sodio de 35,35 mg/L; mientras que para el extracto de *Chuquiraga jussieui*, la CI50 fue de 64,89 mg/L y la CI90 fue 86,96 mg/L. Reportaron la posible utilización del extracto de esta planta como antioxidante.”(12)

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta**

#### **2.2.1.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA PLANTA**

La **Huamanpinta** del género ***Chuquiraga***, consta de 20 especies que se distribuyen a lo largo de los valles interandinos. Siendo sus características de ser “una planta silvestre considerablemente pequeña de unos 30 a 40 centímetros de altura. El tallo es nudoso y portador de espinas muy finas, Las hojas son lanceoladas, uninervas de unos 15 mm de largo, las mismas que terminan en pequeñísimas espinitas. Las flores son de color rojo y cada pétalo estas superpuestas como en un tejado, formando una especie de chupetín.” (13)

La especie *Chuquiraga spinosa* – Huamanpinta es una planta con uso terapéutico, siendo utilizada ancestralmente como antiinflamatorio, analgésico, diurético y para el tratamiento de enfermedades prostáticas y además en el cáncer genitourinario. Es una especie de la familia de las Asteraceae, crece en los diversos valles interandinos del Perú sobre los 3,500 metros de altitud. (14)

Entre sus nombres comunes más difundidos están: “Huamanpinta, huancaspita, jari-jari, laulinco, llauilli, paszapamaquin. Se distribuye en los diversos valles de la

sierra peruana entre 3,000 a 4,500 m.s.n.m, y a lo largo de los andes desde Colombia hasta Argentina. En el Perú 5 especies de jalca y puna arriba de los 3000 m, 2 son endémicas. Forma parte de la vegetación propia de la -jalca- cuya restricción manifiesta una tendencia a desaparecer, por lo que es necesario preservarla. Además, se encuentra en los departamentos de Huancavelica, Junín, Huánuco y Ancash.” (14)

### **2.2.1.2. DISTRIBUCIÓN TAXONÓMICA**

**Reino:** Plantae

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Asterales

**Familia:** Astereceae

**Género:** Chuquiraga

**Especie:** Chuquiraga spinosa

**Nombre Común:** Huamanpinta

De acuerdo a la taxonomía de fanerógamas peruanas (Mostacero 1993), la huamanpinta, es una “planta semileñosa de 1 a 1.5 metros de alto. De tallo muy ramificado, densamente folioso. Las hojas de disposición uniformemente alternas simples enteras de pecíolo corto de forma aovada con borde entero con una longitud de 1.5 mm de diámetro de color verde intenso y brillante, con espinas axilares. Flores de color amarillo-anaranjado, con anteras sagitadas, corolas bilabiadas. Una de sus características más sobresalientes es por la partidura del disco del capítulo. Inflorescencia en cabezuela o capítulos rodeada de tres hileras de brácteas involucradas con numerosas flores, sésiles, dispuestas en las axilas de las hojas.” (15)

“Los capítulos femeninos con involucre cilíndrico y con brácteas dispuestas más o menos en cinco series, las externas aovadas y las internas angostamente aovadas. Receptáculo cónico, alveolado. Flores en escaso número con la corola algo filiforme. Aquenios glabros con un disco anular en la parte superior y lateralmente, pappus de color algo amarillento. Capítulos masculinos con involucre cilíndrico con brácteas dispuestas en tres series, las externas e internas elípticas

5 estambres con los filamentos libres y soldados por las anteras (sinanterio), receptáculo cónico alveolado de 1.5 mm de diámetro.” (15)

### **2.2.1.3. PROPIEDADES DE LA HUAMANPINTA**

La Huamanpinta es muy utilizada en nuestro país, por sus excelentes valores medicinales para desinflamar los riñones y las vías urinarias. “En las regiones donde crece esta planta, ha sido experimentada por los mismos pobladores cuando estos padecían de ardor al orinar. Al cabo de una semana de tratamiento se han obtenido muy buenos resultados, pero siempre y cuando se hayan abstenido de comer ajíes, pimienta, colorantes y saborizantes de las comidas que alteran la buena nutrición y de bebidas alcohólicas en cualquiera de sus formas.” (16)

Así tenemos las propiedades con más reconocimiento y virtudes:

- Desinflamante de los riñones la próstata y las vías urinarias.- Esta planta es un gran desinflamante de las vías urinarias, quitando el ardor para orinar en una semana de tratamiento.
- Diurética.- La infusión de la planta.
- Blenorragica.- La infusión de la planta.

Además, es recomendado para el tratamiento de enfermedades hepáticas. Tonifica y activa las funciones del hígado, aumenta el flujo de bilis; es purificador de la sangre, combate la obstrucción hepática; desinflamante de la vesícula biliar y evita la formación de arenilla.

Algunos autores reportan que la composición química de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta contiene: “alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, taninos, sesquiterpenolactonas, aminoácidos y resinas. Tiene además potasio, calcio, fósforo, azufre y silicio. Se coloca 15 g de las hojas para un litro de agua, hervir por 3 a 5 minutos y se toma una taza tres veces al día y se emplea como: Antiinflamatorio de las vías urinarias, antiinflamatorio prostático, cicatrizante, antiséptico vaginal.” (16)

#### **2.2.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA**

Las plantas, “en el transcurso de su crecimiento y por ayuda de su metabolismo, sintetizan y almacenan principios activos y sustancias diferentes llamadas también lastre. Estas últimas determinan la eficacia del medicamento vegetal, en el sentido de acelerar o hacer más lenta la absorción de los primeros en el organismo.

En una misma planta existen varios componentes activos de los cuales uno de ellos es el predominante y determinante en las aplicaciones que tendrá el vegetal. Sin embargo, los componentes secundarios solamente pueden actuar cuando se haya aislado el principio activo principal; esto se notara por sus efectos.

Los principios activos no se distribuyen de una manera uniforme por toda la planta. Se concentran preferentemente en las flores, las hojas y las raíces; con menos frecuencia en las semillas, los frutos y la corteza.” (17)

Existen estudios que demuestran la presencia de compuestos fenólicos flavonoides, alcaloides, saponinas, triterpenos y/o esteroides, taninos pirocatecólicos en la Chuquiraga (18). Así mismo, “los extractos metabólicos de Chuquiraga tamínea Sandwith, subfamilia Barnadesioideae (Asteraceae) mostraron la presencia de quercetina-3-O-glucósido, quercetina-3-O-rutinósido, kaempferol, kaempferol-3-O-glucósido y kaempferol-3-O-rutinósido.” (19)

La extracción de metabolitos presentes en materias primas vegetales es cada vez más aplicada por la ciencia, por su valor como fármacos o alimentos, buscar su uso en la formulación y elaboración de bebidas funcionales dará un valor adicional a las mismas.

##### **2.2.1.4.1. Compuestos Fenólicos:**

Los compuestos fenólicos son “moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Junto con las vitaminas, los compuestos fenólicos se consideran importantes antioxidantes en la dieta, se encuentran en las frutas, hortalizas, raíces y cereales. Miles de compuestos fenólicos se encuentran en las plantas, y se clasifican en diferentes tipos de grupos funcionales. Los compuestos fenólicos juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el

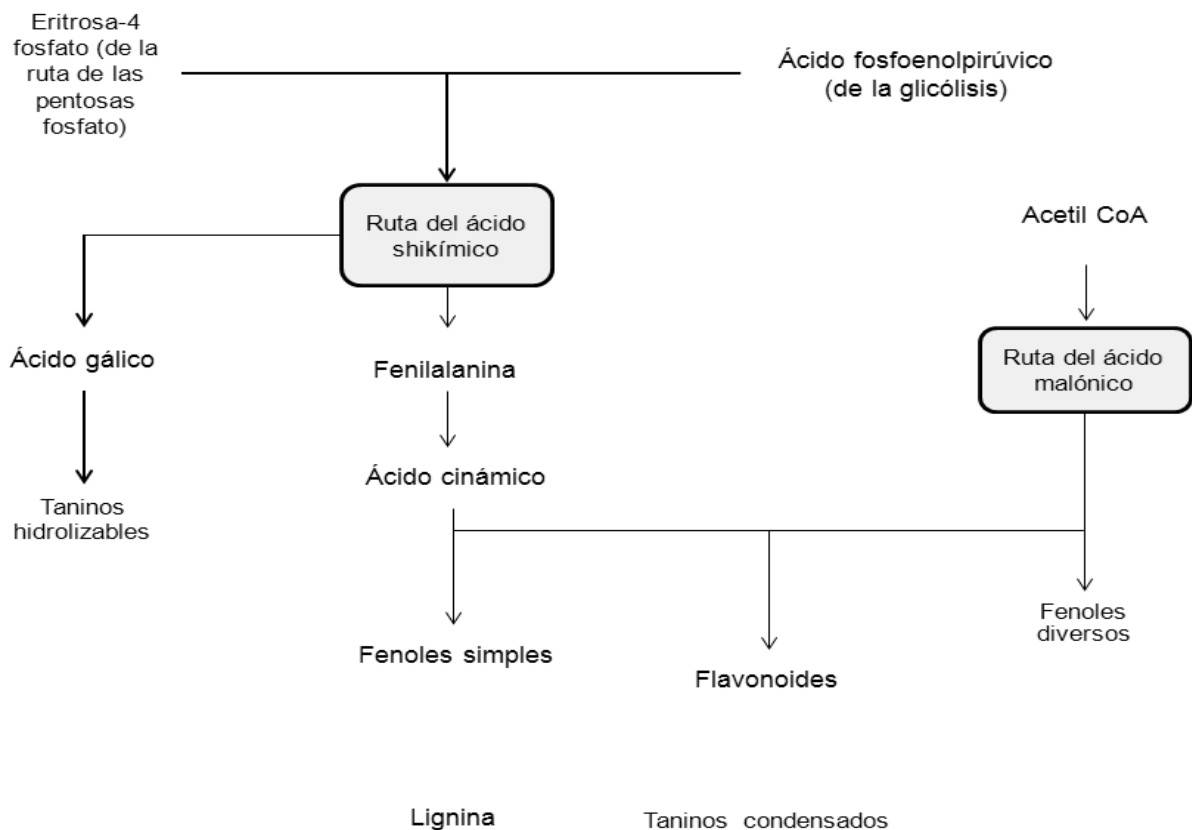
estrés, como la radiación UV y los depredadores. Ellos son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos, por ejemplo, la astringencia de frutas y hortalizas”. (20)

Se clasifican en: Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.

**Rutas metabólicas:**

**La ruta del ácido malónico;** es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en plantas superiores.

**La ruta del ácido shikímico;** responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas. “A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido shikímico y, derivados de éste, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina). La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina. Esta ruta está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no en animales. La fenilalanina y el triptófano se encuentran entre los aminoácidos esenciales para los animales que se incorporan en la dieta”. (20)



**Figura N°1.** Rutas de síntesis de compuestos fenólicos



#### 2.2.1.4.2. Flavonoides

“Los flavonoides son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina. Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayoría dicotiledóneas herbáceas”. (20)

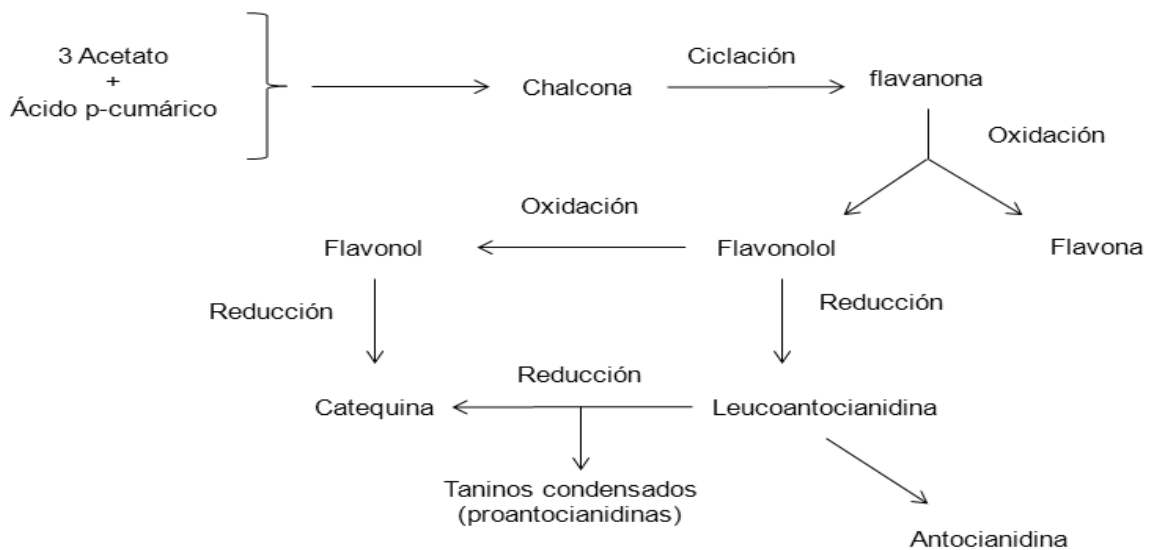
#### **Clasificación:**

Los flavonoides se clasifican en base a sus variaciones estructurales. (21)

1. Con doble enlace entre las posiciones 2 y 3:
  - 1.1. Falvonas: con H en la posición 3
  - 1.2. Flavonoles: con OH en la la posición 3.
  
2. Sin doble enlace entre las posiciones 2 y 3:
  - 2.1. Flavanonas: con H en la posición 3
  - 2.2. Flavanololes: con OH en la posición 3
  
3. Chalconas: con el anillo C abierto.
  
4. Isoflavonoides: con el anillo B en la posición 3 (3-fenil- $\gamma$ -cromona).

#### **Origen biosintético:**

Proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos.



**Figura N° 2.** Origen biosintético de Flavonoides y compuestos relacionados.

#### 2.2.1.4.3. Alcaloides

Los alcaloides “son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico y mayoritariamente de origen vegetal. Tienen una estructura generalmente compleja y ejercen acciones fisiológicas diversas incluso a dosis muy bajas. Son tóxicos y capaces de precipitar con ciertos reactivos característicos. Hay, sin embargo, determinadas sustancias que se consideran alcaloides y que no cumplen las características generales de los alcaloides.” (21)

#### Clasificación:

La clasificación de los alcaloides se puede hacer en base a su estructura y en base a su origen. “Los alcaloides se agrupan en dos grupos: A) con nitrógeno no heterocíclico y B) con nitrógeno heterocíclico. Dentro de cada grupo se ordenan en base a su estructura química y a su origen biosintético.” (21)

Nitrógeno no heterocíclico:

- Con estructura de feniletilamina
- Con anillo de tropolona

Nitrógeno heterocíclico:

- Derivados de ornitina y lisina
- Derivados de fenilalanina y tirosina
- Derivados de triptófano
- Alcaloides diversos.

### **Origen biosintético:**

En los vegetales “los alcaloides proceden del metabolismo secundario y se forman generalmente a partir de los aminoácidos, aunque hay también alcaloides de origen diverso, como los esteroídicos y las bases xánticas.” (21)

### **2.2.2. LITIASIS RENAL**

La litiasis renal es una patología sumamente frecuente, de tal manera que, aproximadamente, del 5-12% de la población de los países industrializados padece algún episodio sintomático antes de los 70 años de edad.

Sin entrar en los complejos mecanismos físico-químicos necesarios para la formación de los cálculos, la litiasis pasa necesariamente por una sucesión de etapas que concurren en la formación y crecimiento del cálculo. La primera etapa es la de sobresaturación de la orina. La segunda fase es la de germinación cristalina, la siguiente es la de aumento de tamaño de las partículas formadas, ya sea por el crecimiento de los cristales o por la agregación de estos entre sí.

Finalmente, la cuarta etapa es la de retención de una o varias de las partículas formadas en un túbulo renal, en la pared de una papila o en las vías urinarias. Se trata de la nucleación propiamente dicha del cálculo.

A partir del núcleo así constituido el cálculo crecerá por cristalización local o por aumento de tamaño de los cristales formados por encima del grado de sobresaturación urinaria.

Se han identificado tres vías que conducen a la formación de los cálculos: “el sobre crecimiento de las placas intersticiales de apatita (formación idiopática de cálculos de oxalato cálcico, hiperparatiroidismo primario, pacientes portadores de ileostomía y de intestino delgado resecaado), los depósitos en forma de cristales en los túbulos (casi todas las causas de litiasis) y la cristalización libre en solución (cistinuria, hiperoxaluria).” (22)

La litiasis urinaria es una enfermedad multisistema, de hecho la complicación extrarenal más frecuente en pacientes litiásicos es la pérdida ósea en columna lumbar. En el primer estudio realizado acerca de la relación entre litiasis y densidad mineral ósea, se objetivó una disminución de la misma en pacientes litiásicos. (23)

Así también se puede señalar que “otros mecanismos de deterioro de la función renal relacionados con la enfermedad litiásica, bien como causa primaria o como manifestación secundaria, son las distintas formas de lesión túbulo-intersticial en el seno de hipercalcemia, nefrocalcinosis, nefropatía por ácido úrico, infección urinaria o acidosis tubular renal.” (24)

Las litiasis renal puede producir un daño estructural tan severo que causan afectación crónica del filtrado glomerular y en consecuencia insuficiencia renal crónica avanzada. Aun cuando la nefropatía diabética y la nefroangioesclerosis hipertensiva ocupan los primeros puestos entre las causas de la insuficiencia renal a nivel mundial, la nefropatía obstructiva por litiasis pieloureteral también es una causa importante. “En los registros de la ERA-EDTA (European renal associations-European Dialysis and Transplantations Associations) la litiasis representaría entre el 4 y el 10% de las causas de insuficiencia renal crónica. (ERA-EDTA Registry2002. Anual Report Academia medical center), y esta incidencia va en aumento, situación alarmante, si se toma en cuenta de que es una causa prevenible (V. Gómez Dos Santos y F. J. Burgos). De todas las causas de nefrolitiasis, las asociadas a infecciones son responsables del 50% de los casos que llegan a IRC terminal. Esto es importante si tomamos en cuenta que en nuestra población la incidencia de litiasis por infección se sitúa entre 18% y 22% de todas las formas de litiasis.” (25)

La litiasis (del griego lithos: piedra) urinaria, es una condición consistente en la formación de cálculos debido a diferentes condicionantes, que causan alteraciones en cualquier segmento de la vía urinaria, desde las papilas renales hasta la uretra distal.

Los estudios arqueológicos muestran que las litiasis urinarias afligían a la humanidad desde por lo menos el año 4800 A.C. “Los médicos griegos y romanos

estudiaron los síntomas y tratamientos de la litiasis urológica, prestando poca atención a la localización del cálculo o las causas de su formación. La cirugía urológica ya fue reconocida por Hipócrates, quién escribió en su juramento: ...no cortaré, ni aún por el cálculo, sino que dejaré tales procedimientos a los practicantes del arte.” (26)

### **2.2.2.1. EPIDEMIOLOGÍA**

#### **Factores genéticos**

Alrededor del 25% de los pacientes con cálculos renales tienen una historia familiar de litiasis renal. “Estudios genéticos realizados por Resnick y Mc Geown concluyeron que la litiasis urinaria puede ser el resultado de un defecto poligénico con penetrancia parcial. Sin embargo White observó que la excreción urinaria de calcio era significativamente más elevada en los cónyuges de los pacientes formadores de cálculos que en los de las personas que no los formaban. Por tanto postuló que tanto la dieta casera como las tendencias familiares deben ser consideradas en las teorías sobre la etiología de la litiasis urinaria.”(27) encontraron que los cálculos renales se formaban más frecuentemente en hombres cuando tenían historia familiar de litiasis que cuando no la tenían.

En tal sentido se indica que en un estudio longitudinal de seguimiento de 37,999 profesionales de la salud del sexo masculino, “la historia familiar de litiasis fue más de tres veces mayor en los hombres con cálculos renales que en los no formadores de cálculos. El riesgo relativo de formación de cálculos continuó siendo alto aun después de ajustar por una variedad de factores de riesgo como ingestión de calcio y excreción de metabolitos urinarios.” (27)

#### **Edad**

Respecto de la edad la mayoría de los pacientes informan “de un primer ataque de la enfermedad durante la adolescencia, sin embargo el pico de incidencia de enfermedad litiásica aparece entre los veinte y los cuarenta años.” (28)

## **Sexo**

De acuerdo a los estudios realizados la incidencia de la litiasis, según el sexo es de alrededor de tres hombres por cada mujer. Varios investigadores han expresado su opinión sobre la tendencia aparentemente similar de padecer enfermedad litiásica en varones y mujeres durante la niñez. (29)

## **Geografía**

Se ha podido observar que la prevalencia de litiasis urinaria es “más elevada en áreas montañosas, desérticas o tropicales. Una revisión de varios estudios epidemiológicos alrededor del mundo realizada por Finlayson en 1974, estableció una prevalencia de enfermedad litiásica muy alta en Estados Unidos. Otras áreas de alta incidencias son las Islas Británicas, los países escandinavos, los mediterráneos, el norte de India y Pakistán, el norte de Australia y Europa Central. Las áreas de baja incidencia, incluyen América Central y del Sur, la mayor parte de África, y las áreas de Australia poblada por aborígenes.” (30)

## **Factores climáticos y estacionales**

El efecto de la geografía sobre la prevalencia de la litiasis, puede explicarse a través de sus efectos sobre la temperatura. Está demostrada la relación entre la temperatura medioambiental y la incidencia estacional de la enfermedad litiásica. Prince y Scardino realizaron un análisis prospectivo de 922 apariciones de cálculos urinarios. El pico de incidencia ocurrió en julio, agosto y septiembre. “La incidencia más alta de cálculos urinarios parece producirse después de alcanzarse la máxima temperatura media anual en el área estudiada. Las elevadas temperaturas aumentan la perspiración, lo que resulta en una orina concentrada, lo que promueve la cristalización urinaria. Hallson y Rose demostraron que la cristaluria es más significativa durante los meses de verano en aquellos pacientes que forman cálculos. Aquellos pacientes con tendencia a formar cálculos de ácido úrico o cistina tienen un riesgo adicional.” (29)

## **Dieta**

La ingestión de diversas comidas y líquidos que conllevan una mayor excreción de sustancias que “facilitan la formación de cálculos tienen un efecto significativo sobre la incidencia de litiasis urinaria, por tanto debemos considerar que la composición de la orina está directamente relacionada con la dieta. De hecho, diferentes estudios relacionan diferentes factores dietéticos (ingesta líquida, pH, calcio, fosfato, oxalato, citrato, fitato, urato y vitaminas), con cada tipo de piedras.”  
(29)

## **Ocupación**

Diversos estudios realizados por Robertson en 1980, relacionaron ocupación, clase social y riesgo de formación de cálculos. Se confirmó que el riesgo de formación de litiasis urinaria cálcica estaba aumentado en los países regiones, sociedades e individuos más opulentos. Parece que esto es debido a mayor ingestión de proteínas animales. Sutor y Wooley correlacionaron la ocupación con la incidencia de cálculos urinarios en 856 pacientes. Los grupos de profesionales y administrativos tuvieron una incidencia más alta que la esperada, mientras que los trabajadores manuales tuvieron una incidencia más baja. Blacklock informó que la incidencia de litiasis fue más elevada en administrativos y personal sedentario de la Royal Navy que en los trabajadores. En cualquier caso es complicado evaluar si la ocupación es un factor primario o si solo constituye otro factor del medio como la dieta, la exposición al calor o el agua ingerida.

## **Nucleación, crecimiento de cristales y agregación**

En orina normal la concentración de oxalato de calcio es varias veces más elevada que su solubilidad en agua. Sin embargo, bajos volúmenes urinarios, elevados índices de excreción de calcio, oxalato, fosfato o uratos, así como baja excreción de citrato y magnesio aumentan la supersaturación del oxalato cálcico. Debido a los inhibidores y otras moléculas, la precipitación del oxalato cálcico en orina ocurre solo cuando su supersaturación es 7 a 11 veces su solubilidad. “El proceso por el cual se forman estos núcleos en soluciones puras se denomina nucleación homogénea. Dichos núcleos no se disuelven y tienen forma de

enrejado. Sin embargo en orina los núcleos cristalinos se forman sobre superficies ya existentes (nucleación heterogénea). Las células epiteliales, restos celulares, cilindros urinarios, otros cristales y eritrocitos actuarían como núcleos heterogéneos.” (31)

Por otra parte, diferentes procesos biológicos crearían sitios de nucleación. Los cálculos crecerían por tanto sobre estos núcleos preformados.

### **Moléculas modificadoras de la formación de cristales**

La orina posee sustancias que alteran la formación de cristales. De hecho se observa que un elevado porcentaje de individuos normales son bioquímicamente indistinguibles de pacientes con cálculos y sin embargo, no los forman. Muchos investigadores creen que el hecho de que ciertos individuos con orinas sobresaturadas no formen cálculos es debido a la existencia de moléculas que inhiben la cristalización de la orina. “En la orina se han encontrado inhibidores para los cristales de fosfato de calcio (magnesio, citrato, pirofosfato y nefrocalcina) y de oxalato de calcio (citrato, pirofosfato, glicosaminoglicanos, fragmentos de RNA y nefroclaina) pero no para el sistema de los uratos. La nefrocalcina, sintetizada por el túbulo contorneado distal y la porción ascendente del asa de Henle, es el inhibidor más potente en una solución simple de la formación de cristales de monohidrato de oxalato de calcio. La nefrocalcina en los formadores de este tipo de cálculos, inhibe la agregación de los cristales 10 veces menos que en la orina de pacientes normales, faltándole un ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico.” (32)

### **Matriz de los cálculos**

Dependiendo del tipo de cálculo, estos poseen entre un 5% y un 65% de material no cristalino o matriz. Existen investigaciones que la caracterizan como un derivado de varias de las mucoproteínas de la orina y el suero y parece jugar un papel en la patogenia litiásica.



## **Alteraciones anatómicas**

Diversas alteraciones anatómicas, condicionan el aumento de incidencia de litiasis: estenosis en la unión pieloureteral, pelvis redundante, divertículos caliciales, riñón en herradura, uréter ocele, reflujo vésico-ureteral, estenosis de uréter, riñón en esponja.

## **Hiper calciuria.**

La asociación entre el aumento de excreción urinaria de calcio y cálculos renales fue establecida por Flocks ya en 1939 y posteriormente por Albright y cols en 1948. La definición más exacta de hiper calciuria fue la de Pak "excreción superior a 200 mg de calcio en 24 horas, después de seguir durante una semana una dieta de 400 mg de calcio y 100 mEq de sodio". (23)

La hiper calciuria incrementa la sobresaturación relativa de la orina y forma complejos con los inhibidores de la formación de cálculos, tales como el citrato o los glucosaminoglicanos.

## **Hormonas sexuales**

Los cálculos de oxalato cálcico aparecen mucho más frecuentemente en hombres que en mujeres, aun considerando el hiperparatiroidismo, una entidad claramente femenina. Varias observaciones sugieren que las hormonas sexuales participan en la patogenia de la litiasis renal. Los estrógenos, progesterona y testosterona modulan la síntesis de 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub> y la absorción intestinal de calcio mediante la estimulación de la 1 $\alpha$ -hidroxilasa renal. La excreción urinaria de citrato es mayor en mujeres normales que en hombres, pero disminuye mucho más en las mujeres con cálculos que en hombres con cálculos. En cualquier caso son necesarios más estudios para conocer de manera exacta las implicaciones de las hormonas sexuales en la génesis litiásica.

## **Cálculos de ácido úrico**

El ser humano no tiene la capacidad de convertir los productos derivados del metabolismo de la purina (ácido úrico) en alantoína, soluble en agua. Por ello

tiene un nivel de ácido úrico en el sistema que es 10 veces mayor que otros mamíferos. Además excretamos una orina predominantemente ácida debido a los productos finales del metabolismo. En la orina humana dicho producto existe en dos formas: ácido úrico libre y sal de urato la cual forma con el sodio un complejo el urato de sodio, 20 veces más soluble en agua que el ácido úrico libre.

### **Cálculos de cistina**

Se dan únicamente en aquellos pacientes afectados de cistinuria, enfermedad hereditaria de transmisión autosómico recesiva, en la que se produce un anormal transporte túbulo renal e intestinal de cistina y los aminoácidos dibásicos ornitina, lisina y arginina, cursando con aumento de su excreción urinaria, aunque solamente la cistina tiene facultad de precipitar formando cristales. La solubilidad de la cistina depende del pH, siendo más soluble con  $\text{pH} > 7,5$  y precipitando cuanto más bajo sea este. Sin embargo el factor determinante en la formación de estos cálculos es el grado de saturación urinaria de cistina. Si la cistinuria excede de 250 mg/día, como ocurre en pacientes homocigotos, la cistina precipitará con facilidad. Debe sospecharse en, historia familiar de urolitiasis, presentación a temprana edad o gran tendencia a recurrencia. El diagnóstico de certeza se realiza al encontrar cristales de cistina en el sedimento urinario, o cuando el test cualitativo de cistina es positivo.

#### **2.2.2.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Existen múltiples manifestaciones clínicas de la litiasis, que oscilan desde la ausencia de síntomas durante períodos largos de tiempo hasta episodios de intenso dolor lumbar. En ocasiones la litiasis se diagnostica de forma incidental con pruebas de imagen realizadas por otras causas.

Es la sintomatología fundamental de la litiasis urinaria. “Ocurre cuando existe obstrucción al flujo urinario, que condiciona una hiperpresión del sistema colector y de la cápsula renal. Puede ser súbito e intenso, cuando el cálculo provoca obstrucción aguda, o continuo y sordo cuando existe obstrucción crónica parcial. La importancia del dolor depende más de la velocidad de instauración de la obstrucción que del grado de distensión.” (33)

“La patogenia del dolor se debe al aumento de la presión intraluminal por encima de la situación del cálculo, provocando distensión de la musculatura lisa pieloureteral y de los elementos fibroconjuntivos de la cápsula por el edema, produciendo estímulos en los receptores de presión de estas estructuras.” (34)

Durante el episodio doloroso visceral se produce además un dolor referido. “El paciente referirá sensaciones dolorosas en región lumbar, vacía y fosa ilíaca, región inguinal, genitales externos y cara interna del muslo. El registro doloroso en estos metámeros cutáneos es debido a que las mismas neuronas del asta posterior reciben impulsos de las terminaciones sensitivas de la pared pieloureteral y de la superficie cutánea descrita. Así, cuando los impulsos por distensión de dicha pared llegan al córtex, son equivocadamente referidos hacia la zona que suele recibir mayor número de impulsos, es decir la región cutánea.” (34)

Es habitual durante el cólico nefrítico y es debida al efecto irritativo del cálculo sobre el urotelio, y menos frecuentemente a infección sobreañadida. Habitualmente es microscópica.

En cálculos que producen obstrucción crónica, generalmente localizados en infundíbulos o cálices renales, se produce un dolor lumbar de baja intensidad, de carácter intermitente, a veces coincidiendo con el ejercicio o sobrecarga hídrica. Es frecuente el dolor crónico en pacientes con cálculos coraliformes.

### **2.2.2.3. TRATAMIENTO**

#### **Tratamiento del cólico nefrítico. Tratamiento expulsivo. Extracción activa de los cálculos**

La mayoría de los cálculos ureterales se expulsan de manera espontánea. En los pacientes con un episodio agudo de litiasis, la medida terapéutica más urgente es la analgesia.

“El tratamiento expulsivo médico se basa en los efectos beneficiosos de ciertos medicamentos que contribuyen a la relajación del musculo liso ureteral mediante la inhibición de las bombas de los canales de calcio o el bloqueo de los receptores alfa1. Así, se ha demostrado que los alfabloqueantes facilitan la expulsión de los

cálculos. Tamsulosina (0,4 mg), es el alfabloqueante más utilizado en la práctica diaria. Asimismo, existen estudios en los que se ha demostrado la eficacia de terazosina, doxazosina, alfuzosina y naftopidilo.

Al disminuir el edema local, se ha descrito que una combinación con corticosteroides (metilprednisolona 0,5-1 mg/Kg/día por vía intramuscular o i.v., una o dos dosis) podría acelerar la expulsión de los cálculos en comparación con el tratamiento exclusivo con antagonistas de los receptores alfa. Sin embargo, no se recomienda el uso aislado de corticosteroides.” (35)

### **Tratamiento dietético**

La mayoría de las anomalías metabólicas causantes de cálculos tienen un origen genético, de manera que la predisposición litiásica dura toda la vida. Por tanto, debe intentarse un control dietético y reservarse el tratamiento farmacológico para los casos complicados.

“El tratamiento dietético, a nivel general, incluye una ingesta elevada de agua (2.000-3.000 ml/1,73 m<sup>2</sup>), de frutas y de verduras y una serie de normas que varían en función de la anomalía metabólica presente.

El tratamiento dietético, cuando se realiza bien, es muy útil para evitar la formación de cálculos. En la HI, se indica la restricción moderada de sal y de proteínas de origen animal. El consumo excesivo de sal, además de elevar la calciuria, descende la citraturia por lo que es recomendable mantener una dieta con unos 100-150 mEq/día de sodio. Los lácteos deben cubrir las necesidades de calcio según la edad, evitando el defecto o el exceso. Una dieta pobre en calcio puede repercutir negativamente en la densidad mineral ósea y eleva, por otra parte, la oxaluria. Es conveniente una ingesta adecuada de frutas (sobre todo, cítricos), verduras (por su contenido en agua y magnesio), cereales integrales y pescado azul. Las frutas con un mayor contenido en citrato son los pomelos y los limones. Los cereales integrales, a través de su contenido en fitatos, reducen la absorción intestinal de calcio. El propio fitato tiene un efecto directo inhibitorio de la cristalización.

Debe evitarse el consumo excesivo de proteínas animales así como el de purinas en los enfermos con hiperuricosuria. El consumo abundante de frutas y verduras

incrementa el pH urinario con lo que se reduce el riesgo de formación de cálculos de ácido úrico.” (35)

### **Tratamiento farmacológico**

Para este tipo de tratamiento se “utilizan las tiazidas que incrementan la reabsorción tubular renal de calcio. Suele ser eficaz la administración de 25-50 mg/día de clortalidona o 50-100 mg/día de hidroclorotiazida. La causa más frecuente de su fracaso es la ingesta excesiva de sal. Además de otros efectos secundarios (hipopotasemia, hipomagnesemia, hiperuricemia, hipercolesterolemia) debe recordarse que las tiazidas descienden la citraturia por lo que se deben asociar con frecuencia a citrato potásico.

El tratamiento con citrato reduce la calciuria especialmente cuando existe acidosis metabólica. Además, en adultos, las tiazidas tienen un efecto directo positivo en la densidad mineral ósea. Nosotros hemos observado que el incremento y recuperación de la densidad mineral ósea conseguido en adolescentes con HI tiene más relación con el incremento de masa corporal que con el propio uso de las tiazidas.” (35)

En los casos en los que “se asocia osteoporosis a la hipercalciuria puede contemplarse el uso de bisfosfonatos (alendronato, ácido zoledrónico).

La hipocitraturia se trata con citrato potásico oral, 1 mEq/Kg/día. La dosis se reparte en tres tomas, dando la mayor parte por la noche al acostarse, momento del día en el que se incrementa el riesgo litógeno. En los casos en los que la citraturia es normal durante el día y desciende solo por la noche, puede iniciarse el tratamiento con una única dosis nocturna.

En la hiperuricosuria se utiliza alopurinol (100-300 mg/día). En la litiasis úrica con pH urinario persistentemente ácido, el tratamiento con citrato potásico es el de elección.” (35)

En la hiperoxaluria primaria el “tratamiento es decepcionante aunque en algunos enfermos el uso de 300-1200 mg/día de piridoxina reduce la oxaluria. Deben asociarse, además, citrato potásico y sales de magnesio. En la hiperoxaluria de origen intestinal, además de intentar corregir la malabsorción, debe realizarse un aporte oral de calcio que tras unirse al oxalato en la luz intestinal ayuda a que se elimine por las heces.

En la cistinuria, se debe alcalinizar la orina preferentemente con citrato potásico o bicarbonato potásico, y nunca con sales sódicas. Cuando no se consigue reducir la concentración de cistina a menos de 300 mg/l o 500 mgr/día, se añaden fármacos con residuo de azufre (tioles). El más utilizado es la D-penicilamina (1-2 g/día), que al unirse con la cistina forma un complejo 50 veces más soluble, si bien, tiene muchas reacciones adversas. Precisa aporte de piridoxina (vitamina B6) a razón de 50 mg/día. Los efectos son dosis dependiente.” (35)

## **2.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

### **2.3.1 HIPÓTESIS GENERAL**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta en ratas albinas cepa Holtzman posee efecto antilítico.

### **2.3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS**

1. Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta con efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman.
2. Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta.

## **2.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES**

| <b>VARIABLES</b> | <b>DIMENSIONES</b> | <b>INDICADORES</b> | <b>ESCALA</b> |
|------------------|--------------------|--------------------|---------------|
|------------------|--------------------|--------------------|---------------|

|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
| <p><b>VI.</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> (Huamanpinta)</p> | <p>Estudio fitoquímico y estudio Farmacológico</p> | <p>Identificación de metabolitos secundarios</p> <p>Concentraciones a evaluar:</p> | <p>250 mg/Kg</p> <p>500 mg/Kg</p> <p>1000 mg/Kg</p> <p>Etilenglicol 1%</p> |
| <p><b>VD</b></p> <p>Efecto antilítico</p>   | <p>Estudio Farmacológico</p>                       | <p>Cambios en el peso de los riñones de las ratas medidos en la balanza</p>        |  |

## 2.5 VARIABLES DE ESTUDIO

**V.I:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa*

**V.D:** Efecto antilítico

## 2.6 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- **Flavonoides**

“Constituyen uno de los subgrupos de los compuestos fenólicos más importantes debido a su actividad antioxidante, encontrándose ampliamente distribuidos en el reino vegetal localizados en la savia vacuolar de las células como hojas, flores y raíces. Los flavonoides pueden clasificarse según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados, en seis clases principales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, taninos condensados y las auronas, también pueden sufrir modificaciones y convertirse en isoflavonoides o neoflavonoides.”(36)

- **Taninos**

“Los taninos poseen un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica. Los taninos hallados en este amplio grupo de compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, presentan estructura química variada no nitrogenados, solubles en agua, mezclas hidroalcohólicas, acetona y tienen en común su carácter astringente (precipitan las proteínas) y su capacidad de curtir la piel.” (36)

- **Drogas Vegetales**

Son aquellas “partes de una planta medicinal que contienen en mayor o menor proporción uno o varios de los principios activos que se extraerán posteriormente; y son hojas, flores, frutos, tallos, raíces, semillas. Las hojas son ricas en heterósidos y alcaloides, el tallo es solo una vía de tránsito entre las raíces y las hojas sin embargo pueden tener los principios activos en la corteza o en la albura.”(36)

- **Secado de la planta**

El secado de la planta tiene gran importancia en la preservación de los principios activos, por lo cual es necesario el secado de la raíz, flores o parte donde se necesite extraer los principios activos lo más inmediato a su cosecha ya que su almacenamiento por 3,5 horas en sacos de polietileno provoca una pérdida del 28-30% de los carotenoides y del 24-26% de los flavonoides, también recomiendan una temperatura de secado de 80°C obteniéndose los mayores rendimientos en el contenido de carotenoides y flavonoides comparados con un secado a 20°C, el menor tiempo de secado se ve reflejado en una menor actuación de las enzimas, por otra parte las temperaturas mayores a 100°C tienden a reducir la cantidad de principios activos.

- **Extracto Hidroalcohólico**

Los Extractos Hidroalcohólicos son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua. Presentan sedimento, color y aroma característicos de la planta de la cual se obtienen. Su concentración es 1:1, es decir, de un kilo de planta, se obtiene 1 litro de extracto. (37)

- **Maceración**



“Es un proceso de contacto prolongado durante cierto tiempo de una materia prima con un solvente que puede ser agua, alcohol, etanol, etc. Constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el menstruo actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular.” (36)

- **Medicina tradicional**

La medicina tradicional es “todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales.” (36)

- **Fitoterapia**

“El uso de productos de origen vegetal para la prevención, la curación o el alivio de una amplia variedad de síntomas y enfermedades. Forma parte de las llamadas terapias naturales. Una buena parte de su extenso uso se hace en forma de autoconsumo.” (36)

- **Taxonomía**

“ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación, generalmente científica, se aplica, en especial, dentro de la biología para la ordenación jerarquizada y sistemática de los grupos de animales y de vegetales.”(36)

- **Efecto antilítico**

“Se dice del medicamento o la sustancia que evita la formación de los cálculos, los disuelve o expulsa: los médicos le han suministrado por vía venosa una droga antilítica que, probablemente, disolverá la piedra que tiene en el riñón”. (36)

# **CAPITULO III**

## **METODOLOGÍA**

### **3.1 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

#### **3.1.1 TIPO DE LA INVESTIGACIÓN**

La investigación propuesta, responde a los criterios de: por su alcance es un estudio exploratorio, descriptivo, por su finalidad de carácter aplicado y su condición temporal prospectivo.

En cuanto a su enfoque la investigación es de enfoque cuantitativo.

#### **3.1.2 NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN**

El estudio alcanza un nivel explicativo, descriptivo

### **3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

La investigación responde a un diseño experimental, desarrollando un conjunto de procedimientos, donde es posible el manejo pre establecido de la Variable Independiente: extracto Hidroalcohólico en diferentes composiciones, para observar sus efectos antilícticos.

### **3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.3.1 POBLACIÓN**

- Se realizó el ensayo con la planta de *Chuquiraga spinosa*-Huamanpinta del departamento de Junín, provincia de Jauja.
- El modelo animal usado fue ratas albinas machos de la cepa Holtzman, de 2 meses de edad, provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### **3.3.2 MUESTRA**

- Se trabajó con 5000mg de la planta, para la obtención del extracto hidroalcohólico de la hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta.
- Se utiliza 25 ratas albinas machos de cepa Holtzman divididas en, un grupo control, un grupo etilenglicol al 1% (inductor y formador de cristales de oxalato de calcio), y tres grupos a dosis de 250, 500, 1000mg, inoculadas por vía oral con el extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta.

### **3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

#### **3.4.1 TÉCNICA**

##### **Marcha fitoquímica**

Es una técnica utilizada en farmacognosia que ayuda a determinar que metabolitos están presentes en los extractos de las plantas, utilizando en el procedimiento varios reactivos, cuyas reacciones precipitadas, cambios de color, etc. indican la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides etc.

## **Cromatografía de capa fina**

La cromatografía en capa fina es una “técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación.
- Comparar muestras. Si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia.
- Realizar el seguimiento de una reacción.” (36)

Es posible estudiar cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado. La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.

“La cromatografía en capa fina se utiliza para observar el comportamiento de la separación colorimétrica en tintas, para separar y cuantificar compuestos de una muestra preparada previamente, si bien no se han publicado estudios que valide su estandarización para la determinación del tiempo de la corrida cromatográfica, número de confetis extraídos y la cantidad de sustancia extraída de la disolución confetis-piridina para su análisis en la cromatoplaça, entre otros.”(36)

## **Espectrofotometría UV VIS**

Es una “técnica analítica que utiliza radiación electromagnética de las regiones visible y ultravioleta. Los instrumentos espectroscópicos característicos constan de: Una fuente estable de energía radiante como por ejemplo una lámpara de cátodo hueco en la absorción atómica o una lámpara de deuterio y wolframio en la absorción molecular, un recipiente transparente para contener la muestra, un monocromador, que es un dispositivo que aísla una región restringida del espectro para la medida, un detector de radiación, que convierte la energía

radiante en una señal utilizable, un sistema de procesamiento y lectura de la señal, que visualice la señal detectada en una escala de medida, en una pantalla de osciloscopio, en un medidor digital o en un registrador.” (36)

“La función básica de un espectrofotómetro UV/VIS es la de medir la absorbancia o transmitancia. Los espectros de una molécula que contiene cromóforos son complejos, debido a que se superponen las transiciones rotacionales y vibracionales con las transiciones electrónicas, dando como resultado líneas superpuestas.” (36)

El análisis espectrofotométrico cuantitativo se realiza mediante la aplicación de la ley de Beer-Lambert. Este consiste en relacionar la absorbancia de energía realizada por una sustancia con la concentración de dicha sustancia en solución.

“La ley de Beer Lambert sostiene que la concentración de una sustancia en solución es proporcional a la absorbancia de la disolución. Cuando una radiación monocromática pasa a través de una disolución homogénea en una celda, la intensidad de la radiación emitida depende de la longitud de la celda y de la concentración de la disolución. En la literatura aparecen diversos símbolos y términos alternativos para la absorbancia. En la IUPAC no existe una convención para los símbolos utilizados en la espectrofotometría de absorción molecular.” (38)

“Las soluciones estándar se miden en el espectrofotómetro bajo las mismas condiciones que las utilizadas posteriormente para las muestras desconocidas. Una vez graficada la curva de calibración, la concentración del analito se obtiene por interpolación, para asegurar la fiabilidad de los resultados, estos pueden acompañarse de un análisis estadístico que cuantifica los errores asociados a cada punto de la recta, a la pendiente y ordenada en el origen de la recta.” (39)

### **3.4.2 INSTRUMENTOS**

#### **Equipos**

Para el trabajo se utilizaron los siguientes equipos:

- Balanza Gramera. - para el pesado de las ratas albinas.
- Balanza Analítica. - para el pesado de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.
- Estufa. - para el secado de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.

- Rotavapor. - para la extracción de alcohol de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.
- Espectrofotómetro UV-VIS. - para la cuantificación total de Flavonoides.
- Plancha de calentamiento.
- Luz UV 254 y 366 nm.

### 3.5 MATERIALES Y REACTIVOS

**TABLA 1.** Materiales y Reactivos usados en el proceso experimental.

| Materiales                               | Reactivos  |
|--|--|
| Se utilizaron los siguientes materiales: | Para el trabajo se utilizaron los siguientes reactivos:          |
| • Material estéril de Laboratorio        | • Reactivo de Mayer  |
| • Papel Kraft                            | • Reactivo de Wagner   |
| • Matraz Erlenmeyer                      | • Reactivo de Dragendorff  |
| • Embudo de vidrio                       | • Reactivo de ácido Fosfowolframio                               |
| • Papel filtro                           | • Reactivo de Sonneschein  |
| • Tubos de ensayo                        | • Reactivo de Reineckato   |
| • Pipetas                                | • Reactivo de Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado) |
| • Fiolas de 50 mL                        | • Reactivo de Cloruro Férrico                                    |
| • Pera de bromo de 250 mL                | • Reactivo de gelatina al 1%                                     |
| • Estándar de Quercetina                 | • Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)              |
| • Estándar de Rutina                     | • Reactivo de Ninhidrina   |
| • Estándar de Cafeína                    | • Reactivo de Fehling A  |
|  | • Reactivo de Fehling B  |
|  | • Reactivo de Lugol  |
|  | • Reactivo 2,4 DNPH  |
|  | • Alcohol de 96°C  |
|  | • Metanol  |
|  | • Etanol   |
|  | • Cloroformo   |
|  | • Agua destilada   |
|  | • Reactivo de Tricloruro de Aluminio al 2%                       |
|  | • Acetato de sodio 1 M   |
|  | • Reactivo Metanol : Agua (25:75)                                |
|  | • Reactivo BAW (Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)                    |
|  | • Ácido sulfúrico 2 N  |
|  | • Hidróxido de sodio al 10%                                      |
|  | • Etilenglicol   |

### 3.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El procedimiento experimental se organizó en las siguientes secuencias: Procedimientos previos, screening fitoquímico, cromatografía en capa fina, prueba de cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría UV-VIS, prueba de solubilidad y ensayos preliminares así como también el estudio de la actividad anti litiasis de las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta .Se ejecutaron en los laboratorios de Control de Calidad y Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### Procedimientos previos:

- **Secado de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.**

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 se quieren evaluar.

- **Extracción de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.**

Una vez ya seca las hojas de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta son molidas manualmente, observando específicamente la indumentaria apropiada que garantice la asepsia.

Es pesada en la balanza analítica para saber cuánto de alcohol-agua (70-30) se verte 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 *Chuquiraga spinosa*-Huamanpinta es filtrada con papel Whatman, para no dejar pasar las hojas y si solo líquido para los análisis posteriores.

- **Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.**

Para esta parte del extracto hidroalcohólico es solo para la prueba de Solubilidad, de manera que solo se toma una pequeña proporción del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa*-Huamanpinta y es llevada al rotavapor, equipo que es utilizado para la evaporación del solvente; este equipo consta de una vasija de calentamiento donde se coloca 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 extruido de la muestra. Este trabajo es a una temperatura controlada que no debe de exceder los 50°, después de un tiempo transcurrido la muestra es llevada a la estufa a 40° para obtener el extracto seco en forma de melcocha.

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

### **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 screnning fitoquímico comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación).

El procedimiento es poner de 1 a 2 mL del extracto de *Chuquiraga spinosa* -Huamanpinta en los tubos de ensayo para luego agregar de tres (03) a cinco (5) gotas de los reactivos para la identificación de los metabolitos.

### **MetaMetabolitos Secundarios:**

Se realizaron pruebas de identificación con los siguientes reactivos como se muestra en la tabla N°2 (ver anexo 2)

**TABLA 2.** Pruebas empleadas para identificación de metabolitos secundarios.

| PRUEBAS                                       | REACTIVOS   |
|---|---|
| Pruebas de alcaloides                         | Mayer (Yoduro de mercurio y potasio)  |
|   | Wagner (Yodo – yoduro de potasio)   |
|   | Dragendorf (Yoduro de bismuto y potasio)  |
|   | Scheibler (Ácido fosfortungtico)  |
|   | Sonneschein (Ácido fosfomolibdico)  |
|   | Reineckato ( $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]2\text{H}_2\text{O}$ ) |
| Pruebas de flavonoides y Compuestos Fenólicos | Shinoda (Limaduras de magnesio + HCL concentrado)                                       |
|   | Cloruro Ferrico (Cloruro férrico disuelto en agua)                                      |
|   | Reactivo de gelatina al 1% (Gelatina + clouro de sodio)                                 |
|   | Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)                                       |

**Metabolitos Primarios:**

Se realizaron pruebas de identificación con los siguientes reactivos como se muestra en la tabla N°3 (ver anexo 3)

**TABLA 3.** Pruebas empleadas para identificación de metabolitos primarios.

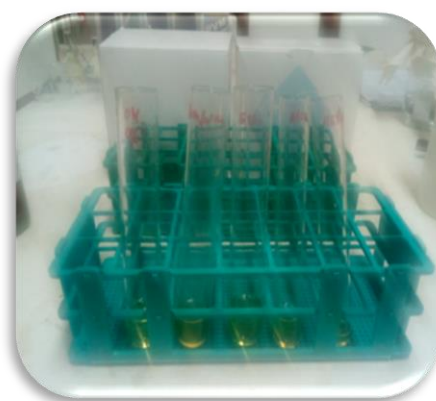
| METABOLITOS PRIMARIOS |                   |
|-----------------------|-------------------|
| <b>P</b>              |                   |
| Prueba de almidón     | Reactivo de Lugol |

### **Prueba de Solubilidad:**

Para la prueba de Solubilidad se cuenta con el extracto hidroalcohólico de Huamanpinta, se toma una pequeña cantidad de muestra y se coloca en los tubos de ensayo para luego verter unos 3 a 5 mL de los solventes como (Alcohol de 96°, Cloroformo, Etanol, Agua y Metanol), esta prueba muestra la referencia en que solventes es más soluble la muestra a tratar.

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

Tal como se muestra en la figura N° 1.



**Figura N°3:** Prueba de Solubilidad del extracto seco de “Huamanpinta”

Fuente: Elaboración propia

### **Prueba de Cromatografía en capa fina (CCF):**

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 semi 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.

- **CCF para Alcaloides**

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó la placa cromatográficas de la marca Merck (TLC Silica gel F<sub>254</sub>) como fase estacionaria, para la fase móvil se usó el diluyente de elución de Metanol: Agua en proporción de (25:75) respectivamente.

Para la comparación se usó un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl, caso similar con la muestra de *Chuquiraga spinosa* "Huamanpinta".

En la placa cromatográficas se aplica 5 µl del estándar y de muestra y una vez terminada la corrida se seca la placa en la plancha de calentamiento hasta evaporar todo el solvente, caso seguido se evidencia las manchas de desplazamiento en la luz UV 254 nm. Para la identificación de alcaloides en la muestra se rocía 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 Huamanpinta dio positivo para alcaloides.

- **CCF para Flavonoides**

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó la placa cromatográficas de la marca Merck (TLC Silica gel F<sub>254</sub>) 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 evidencia 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 cromatográficas, caso similar con la muestra de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta.

En la placa cromatográfica se aplica 5 µl del estándar y de muestra una vez terminada la corrida la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente, se evidencia las manchas en la luz UV a 254

nm, y se usa como revelador el tricloruro de aluminio, para una muestra positiva es característico de manchas amarillas.

La muestra de Huamanpinta dio positivo para flavonoides.

- **Prueba de espectrofotometría UV VIS para 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.

- **Método de Flavonoides Totales.**

Para la realización de la prueba se tiene una concentración de 1 mg/mL de estándar Quercetina, se hace diluciones para obtener concentraciones de 0.024, 0.1 y 0.2 mg/mL en fioles de 50 mL y se enrasan con etanol.

Después a cada concentración se le toma 2 mL de alícuota y se le agrega 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 incuba por 30 minutos.

Para las muestras se disuelve el extracto seco en 5 mL de etanol. Seguidamente se toma una alícuota de 0.2 mL y se agrega 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 incuba por 30 minutos.

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

### **Ensayo farmacológico:**

- **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.

Se utilizó en total 5 grupos de 5 animales por cada tratamiento, con un grupo control con inductor y uno control negativo, ratas normales, para el ensayo farmacológico.

En el ensayo farmacológico en la administración del extracto hidroalcohólico fue por la vía oral. La muestra fue administrada mediante sondas nasogástricas a tres niveles de dosis en un total de 15 ratas albinas machos (1000, 500 y 250 mg/kg de peso corporal), 5 ratas control Etilenglicol 1% y 5 ratas control negativo, animales normales, todas de la cepa Holtzman.

El tratamiento fue por 21 días consecutivos posteriores a la inducción para la formación de los cristales de oxalato de calcio. Se usó el método de la hiperoxaluria con la administración de Etilenglicol al 1% por vía intraperitoneal durante tres días. Se analizaron al final de la prueba las formaciones de oxalato de calcio como contenido en los riñones, tomándose los pesos de cada uno de ellos, tanto derecho como izquierdo en todas las ratas ensayadas.

El extracto hidroalcohólico de Huamanpinta presenta efecto antilítico en el modelo estudiado, a las dosis de 250, 500 y 1000 mg de muestra/Kg corporal.

- **Evaluación de la Actividad Antilítiasis.**

El ensayo comprendió un total de cinco grupos de experimentación.

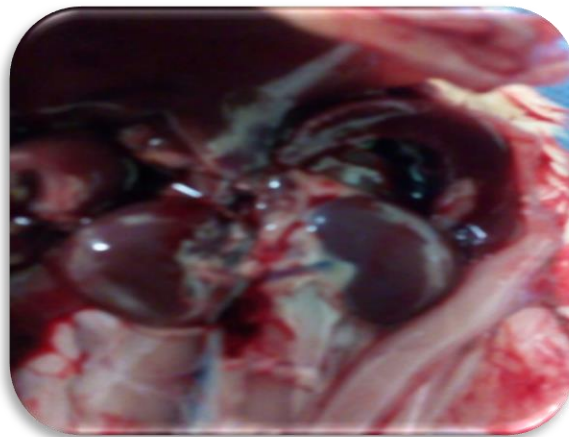
Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la tabla 3:

**TABLA 4.** Tratamiento de Actividad Antilítiasis “Huamanpinta”.

| <b>Grupo</b>            | <b>Animales</b> | <b>Dosis</b> |
|-------------------------|-----------------|--------------|
| <b>Control negativo</b> | 5               | 0            |

|                     |   |            |
|---------------------|---|------------|
| <b>Etilenglicol</b> | 5 | 1%         |
| <b>Dosis 1</b>      | 5 | 250 mg/kg  |
| <b>Dosis 2</b>      | 5 | 500 mg/kg  |
| <b>Dosis 3</b>      | 5 | 1000 mg/kg |

Este estudio se fundamenta en la prevención del efecto lítico ante la formación de cristales de oxalato de calcio. El primer día de la prueba se preparó a los animales para la inducción respectiva. Este proceso se desarrolló siguiendo el método de litiasis sobre cálculos renales, o formación de cristales de oxalato de calcio, por el método de hiperoxaluria, validado y citado en el Urology Journal: Ethanolic extract on ethylene glycol – induced kidney calculi in rats, en el cual se usa el reactivo Etilenglicol 1% como inductor. Tal como se muestra en la figura N° 2.



**Figura N°4. Necropsia de todos ellos para la extracción de los riñones**

El periodo de inducción es de 3 días. Esto comprende la inoculación intraperitoneal por ese tiempo a los grupos de animales de experimentación, a

excepción del grupo Control negativo, que es el control de ratas normales. El volumen inyectado es de 1 ml para cada animal.

Al cuarto día, posterior a la inducción se inicia el periodo de tratamiento por 21 días. Este tiempo comprende la administración diaria del extracto en estudio, es decir el extracto hidroalcoholico de *Chuquiraga spinosa* "Huamanpinta" a los grupos formados: 3 grupos dosificados con las concentraciones de 250, 500, y 1000 mg de extracto/Kg de rata. Al grupo formado por ratas que solo se administró el inductor, o sea, Etilenglicol al 1%, no recibieron tratamiento alguno.

Al final de la prueba se sacrificaron a los animales por dislocación cervical y se procedió a la necropsia de todos ellos para la extracción de los riñones. Ya removidos estos y separados por grupos, se procede al pesado respectivo de cada uno de ellos para evaluar de acuerdo al peso resultante en comparación con el control y al tratamiento realizado, si es que ha habido disminución en el contenido de los cristales de oxalato de calcio en cada uno de los riñones tratados, ante la inducción con Etilenglicol al 1%.

- **Condiciones de Ensayo:**

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo en el tiempo de experimentación se registraron en los siguientes rangos: temperatura = 22 + 4°C; humedad = < 70 %; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El consumo de agua y alimento fue ad libitum.

### **3.7 TÉCNICAS ESTADÍSTICAS DE ANÁLISIS DE DATOS.**

Los resultados obtenidos, en los diferentes tratamientos, se analizaron estadísticamente para evaluar el efecto del producto sobre los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ( $p < 0.05$ ) por un test de comparación múltiple (Test de Tukey-Kramer) para determinar si existen diferencias entre ellas.



# CAPITULO IV

## RESULTADOS

### 3.8 RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.8.1 Resultado de la Marcha Fitoquímica

Se realizó la identificación de metabolitos primarios y secundarios del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta, con la técnica de la marcha fitoquímica, utilizando diversos reactivos para cada reacción. Los resultados de metabolitos primario y metabolitos secundarios se mencionan en la tabla 4.

**TABLA 5.** Identificación de metabolitos secundarios en extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* –Huamanpinta.

| IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS   |                            |                              |
|---|----------------------------|------------------------------|
| Metabolitos Primarios                     | Reactivo de identificación | Resultado para “Huamanpinta” |
| Almidón                                   | Lugol                      | Coloración oscura (+)        |
| IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS |                            |                              |
| Metabolitos secundarios                   | Reactivo de identificación | Resultado para “Huamanpinta” |
|   | Mayer                      | Precipitado blanco (++)      |

|   |                        |                                  |
|---|------------------------|----------------------------------|
| <b>Alcaloides</b>                         | Wagner                 | Precipitado marrón (+++)         |
|   | Dragendorff            | Precipitado rojo o naranja (+++) |
|   | Scheibler              | Precipitado o Color blanco (+)   |
|   | Sonneschein            | Precipitado naranja (-)          |
|   | Reineckato             | Color rosa (++)                  |
| <b>Compuestos fenólicos y Flavonoides</b> | Shinoda                | Color rojo (++)                  |
|   | Cloruro férrico        | Color verde (+++)                |
|   | Gelatina al 1%         | Precipitado blanco (++)          |
|   | Reacción de Bortranger | Color rojo (++)                  |
|   |                        |                                  |

Dónde:

(-) 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

### 3.8.2 Resultados de la prueba de solubilidad

Se determinó la solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta obteniendo como resultados lo que se muestra en la tabla 6.

**TABLA 6.** Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa*-Huamanpinta.

| PRUEBA DE SOLUBILIDAD |                              |
|-----------------------|------------------------------|
| <b>Solventes</b>      | Resultado para "Huamanpinta" |

|                    |              |
|--------------------|--------------|
| <b>Alcohol 96°</b> | <b>(++)</b>  |
| <b>Cloroformo</b>  | <b>(+)</b>   |
| <b>Etanol</b>      | <b>(+++)</b> |
| <b>Agua</b>        | <b>(+++)</b> |
| <b>Metanol</b>     | <b>(+++)</b> |

Dónde:

- (-) La solubilidad no se visualiza
- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++) La solubilidad es mayor

### 3.8.3 Resultados de la cromatografía.

Se obtuvo 1.99 mg de Quercetina / mL de extracto; es decir que los flavonoides totales se expresan en miligramos equivalentes de Quercetina por mililitros de extracto.

### 3.8.4 Resultados del ensayo farmacológico

- **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): 22,1– 23,8°C

Humedad (%): 69%

Luz, Oscuridad: 12L: 12°

- **Actividad Anti litiasis:**

El extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presenta efecto anti litiasis en el modelo estudiado, a las dosis de 500 y 1000 mg de extracto/Kg de peso corporal, expresado en la reducción del peso del órgano del riñón, ante la formación de cristales de oxalato de calcio.

Los datos son mostrados en la siguiente tabla:

**TABLA 7.** Resultados de Actividad Anti litiasis.

| DOSIS                   | Animales        | Pesos del riñón (g) |                 |
|-------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
|                         |                 | Riñón derecho       | Riñón izquierdo |
| <b>Control negativo</b> | 1               | 0.66                | 0.67            |
|                         | 2               | 0.64                | 0.66            |
|                         | 3               | 0.65                | 0.66            |
|                         | 4               | 0.64                | 0.67            |
|                         | 5               | 0.66                | 0.66            |
|                         | <b>Promedio</b> | <b>0.65</b>         | <b>0.664</b>    |
|                         | <b>D.S</b>      | <b>0.010</b>        | <b>0.005</b>    |
| <b>1000 mg/kg rata</b>  | 1               | 0.71                | 0.73            |
|                         | 2               | 0.72                | 0.72            |
|                         | 3               | 0.7                 | 0.74            |
|                         | 4               | 0.71                | 0.73            |
|                         | 5               | 0.72                | 0.72            |
|                         | <b>Promedio</b> | <b>0.712</b>        | <b>0.728</b>    |
|                         | <b>D.S</b>      | <b>0.008</b>        | <b>0.008</b>    |
| <b>500 mg/kg rata</b>   | 1               | 0.85                | 0.82            |
|                         | 2               | 0.86                | 0.82            |
|                         | 3               | 0.86                | 0.83            |
|                         | 4               | 0.85                | 0.83            |
|                         | 5               | 0.84                | 0.81            |
|                         | <b>Promedio</b> | <b>0.852</b>        | <b>0.822</b>    |
|                         | <b>D.S</b>      | <b>0.008</b>        | <b>0.008</b>    |
| <b>250 mg/kg rata</b>   | 1               | 0.87                | 0.84            |
|                         | 2               | 0.86                | 0.85            |
|                         | 3               | 0.87                | 0.85            |
|                         | 4               | 0.85                | 0.85            |
|                         | 5               | 0.87                | 0.84            |
|                         | <b>Promedio</b> | <b>0.864</b>        | <b>0.846</b>    |
|                         | <b>D.S</b>      | <b>0.009</b>        | <b>0.005</b>    |
| <b>Etilenglicol 1%</b>  | 1               | 0.90                | 1               |
|                         | 2               | 0.91                | 0.99            |

|  |                 |              |              |
|--|-----------------|--------------|--------------|
|  | 3               | 0.92         | 0.98         |
|  | 4               | 0.91         | 0.97         |
|  | 5               | 0.91         | 0.98         |
|  | <b>Promedio</b> | <b>0.91</b>  | <b>0.984</b> |
|  | <b>D.S</b>      | <b>0.007</b> | <b>0.011</b> |

La tabla 7 Representa los datos del peso en g. de los riñones de las ratas sacrificadas después de haberle realizado la inducción a litiasis y después del tratamiento en los grupos control positivo, control negativo y en las diferentes dosis del extracto de la planta. El peso promedio en el grupo control negativo fue para el riñón derecho 0.65 g y para el izquierdo 0.664, en el grupo control positivo Etilenglicol fue 0.91 g y 0.984 g, para el grupo tratamiento 1000 mg el promedio fue 0.712g y 0.728 g, para 500 mg fue 0.852g y 0.822 g y para la dosis mínima 250 mg fue de 0.864 g y 0.846 g en cada riñón respectivamente.

**TABLA 8.** Análisis estadístico del peso de los riñones.

| Grupo                   | Animales | Dosis      | Peso riñón derecho (g) | Peso riñón izquierdo (g) | Diferencia Estadística |
|-------------------------|----------|------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| <b>Control negativo</b> | 5        | 0          | 0.65 ± 0,010           | 0.664 ± 0,005            | -                      |
| <b>Etilenglicol 1%</b>  | 5        | 40 mg/kg   | 0.91 ± 0,007           | 0.984 ± 0,011            | P < 0,05               |
| <b>Dosis 1</b>          | 5        | 250 mg/kg  | 0.864 ± 0,09           | 0.846 ± 0,005            | P < 0,05               |
| <b>Dosis 2</b>          | 5        | 500 mg/kg  | 0.852 ± 0,008          | 0.822 ± 0,008            | P < 0,05               |
| <b>Dosis 3</b>          | 5        | 1000 mg/kg | 0.712 ± 0,008          | 0.728 ± 0,008            | P < 0,05               |

La tabla 8 Representa los resultados del análisis estadístico realizado con un P < 0,05 = No existe diferencias estadísticas con respecto al control.

**TABLA 9.** Resultado del control del peso del riñón derecho en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.

| Riñón Derecho    |                 |                 |                |                |
|------------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|
| Control Negativo | Etilenglicol 1% | 1000 mg/kg rata | 500 mg/kg rata | 250 mg/kg rata |
| 0.66             | 0.90            | 0.71            | 0.85           | 0.87           |
| 0.64             | 0.91            | 0.72            | 0.86           | 0.86           |
| 0.65             | 0.92            | 0.7             | 0.86           | 0.87           |
| 0.64             | 0.91            | 0.71            | 0.85           | 0.85           |
| 0.66             | 0.91            | 0.72            | 0.84           | 0.87           |

**TABLA 10.** Resultado de la varianza del peso del riñón derecho en los animales experimentales durante el proceso experimental.

| Grupos           | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|------------------|--------|------|----------|----------|
| Control Negativo | 5      | 3.25 | 0.65     | 0.0001   |
| Etilenglicol 1%  | 5      | 4.55 | 0.91     | 5E-05    |
| 1000 mg/kg rata  | 5      | 3.56 | 0.712    | 7E-05    |
| 500 mg/kg rata   | 5      | 4.26 | 0.852    | 7E-05    |
| 250 mg/kg rata   | 5      | 4.32 | 0.864    | 8E-05    |

**TABLA 11.** Resultado del análisis de varianza del peso del riñón derecho en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.

| ANÁLISIS DE VARIANZA      |                   |                    |                           |             |              |                      |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------|----------------------|
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F           | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Entre grupos              | 0.245576          | 4                  | 0.061394                  | 829.6486486 | 6.51155E-22  | 2.866081402          |
| Dentro de los grupos      | 0.00148           | 20                 | 7.4E-05                   |             |              |                      |
| Total                     | 0.247056          | 24                 |                           |             |              |                      |

**TABLA 12.** Resultado del control del peso del riñón izquierdo en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.

| Riñón Izquierdo     |                    |              |       |             |       |             |       |
|---------------------|--------------------|--------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|
| Control<br>Negativo | Etilenglicol<br>1% | 1000<br>rata | mg/kg | 500<br>rata | mg/kg | 250<br>rata | mg/kg |
| 0.67                | 1                  | 0.73         |       | 0.82        |       | 0.84        |       |
| 0.66                | 0.99               | 0.72         |       | 0.82        |       | 0.85        |       |
| 0.66                | 0.98               | 0.74         |       | 0.83        |       | 0.85        |       |
| 0.67                | 0.97               | 0.73         |       | 0.83        |       | 0.85        |       |
| 0.66                | 0.98               | 0.72         |       | 0.81        |       | 0.84        |       |

**TABLA 13.** Resultado de la varianza del peso del riñón izquierdo en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.

| Grupos              | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---------------------|--------|------|----------|----------|
| Control<br>Negativo | 5      | 3.32 | 0.664    | 3E-05    |
| Etilenglicol<br>1%  | 5      | 4.92 | 0.984    | 0.00013  |
| 1000<br>mg/kg rata  | 5      | 3.64 | 0.728    | 7E-05    |
| 500 mg/kg<br>rata   | 5      | 4.11 | 0.822    | 7E-05    |
| 250 mg/kg<br>rata   | 5      | 4.23 | 0.846    | 3E-05    |

**TABLA 14.** Resultado del análisis de varianza del peso del riñón izquierdo en los animales experimentales durante el proceso de tratamiento.

| ANÁLISIS DE VARIANZA      |                   |                    |                           |             |              |                      |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------|----------------------|
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F           | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Entre grupos              | 0.298744          | 4                  | 0.074686                  | 1131.606061 | 2.9734E-23   | 2.8660814            |
| Dentro de los grupos      | 0.00132           | 20                 | 0.000066                  |             |              |                      |
| Total                     | 0.300064          | 24                 |                           |             |              |                      |

### 3.9 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### Actividad Anti litiasis

Las propiedades de las plantas medicinales favorecen de manera ventajosa, la prevención y eliminación de cálculos urinarios, por inducir la excreción de pequeñas partículas del riñón y reducir la posibilidad de la retención en el tracto urinario, lo que reduce la sobresaturación que es un primer paso y requisito previo para la litogénesis.

A las ratas a las que se les administro Etilenglicol 1% para generar litiasis renal, como generación de cristales de oxalato de calcio, se les disminuyó esta posibilidad tras la administración del contenido hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga spinosa* a las concentraciones de 250, 500 y 1000 mg/ kg de peso corporal, el cual se observó en los registros del peso de los riñones con respecto al control. Esta reducción fue significativa ( $P > 0,05$ ).

El contenido hidroalcohólico de la planta disminuye los niveles de calcio en sangre al igual que en la excreción en orina, fisiológicamente, los mecanismos no están claros, pero son parte del proceso que favorece el efecto antilitiásico.

A las ratas a las que les fue administrado Etilenglicol 1% para generar litiasis renal, tras la administración del extracto hidroalcohólico de la planta a la concentraciones del ensayo, se disminuye la posibilidad de formar cálculos renales, esta reducción fue significativa ( $P > 0,05$ ).

Los resultados se explican cómo alteraciones fisiológicas debidas a la especie del animal, en este caso ratas, y al entorno, que en muchos casos modifican los resultados en los diferentes protocolos.

Estudios, han demostrado que las ratas machos inducen la urolitiasis de manera eficiente pues se sabe que el sistema urinario de las ratas macho se parece a la de los seres humanos y también estudios han demostrado que las formaciones de depósitos de cristales de oxalato de calcio son menores que en otras especies.



Dentro de los diferentes compuestos que hacen parte de la estructura química de la planta según su marcha fitoquímica, se encuentran, algunos compuestos que favorecen niveles altos en sangre de electrolitos como Calcio, Urea, Nitrógeno Ureico, que pueden presentar alteraciones en los diversos sistemas orgánicos del animal, siendo esto entonces tema para estudios posteriores. El aumento de calcio urinario es un factor para estudiar y que favorecería la nucleación y precipitación de oxalato de calcio o de apatita (Fosfato de calcio) de la orina y el crecimiento de cristales lo que se refleja en el aumento del órgano, por tanto, de su peso relativo.

Sin embargo, por experimentación, se determinó que la *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta reduce los niveles de oxalato, y favorece la excreción de calcio.

El aumento de los cristales de oxalato proporciona un entorno apropiado para la formación de cálculos, mediante la formación de cristales de fosfato de calcio, lo que induce a la deposición epitelial de oxalato de calcio. El tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* restaura el nivel de fosfato, lo que reducirá el riesgo de formación de cristales; que son contenidos dentro de los riñones, alterándolos como órgano funcionalmente, pero se refleja en la reducción de su peso aumento de su peso y tamaño.

En la litiasis, la tasa de filtración glomerular disminuye debido a la obstrucción de la salida de la orina por cálculos del sistema. Debido a esto, los productos de desecho, en particular nitrogenados sustancias como la urea, creatinina y ácido úrico se acumulan en sangre. Además, el aumento de la peroxidación lipídica y la disminución de los niveles del potencial antioxidante favorecen a la formación de cálculos. Se ha reportado que el oxalato induce a la peroxidación lipídica y causa daño a los tejidos renales al reaccionar con ácidos grasos poli insaturada en la membrana celular. En los cálculos y cristales inducidos a las ratas, se ha visto un daño renal que se ve en los focos de lesiones formados por los cristales de oxalato de calcio. Sin embargo, en el tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga spinosa* y su efecto anti lítico se podría acelerar el proceso de eliminación de los componentes que

favorecen la formación de los cristales, y prevenir la formación de cálculos en el sistema urinario.

En relación a los antecedentes de la investigación, se pueden señalar el estudio desarrollado por Mallma y Vega (2015), del extracto hidroalcohólico de hojas de *Chuquiraga spinosa* less “intipasapra” en la hiperplasia prostática benigna inducida por alcohol etílico en ratas. Detectaron compuestos fenólicos: flavonoides y taninos; grupo amino libre, carbohidratos, llegando a la conclusión del efecto curativo de esta planta. Resultado que corrobora el estudio en cuanto al extracto hidroalcohólico de las hojas utilizado, los metabolitos secundarios encontrados como responsables del principio activo, así como del efecto curativo en las zonas urinarias.

Finalmente, los datos presentados indican que la administración del extracto hidroalcohólico de la *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta en sus 3 concentraciones en ratas con Etilenglicol 1% para inducir la litiasis renal, reduce y previene la litiasis renal. Se respalda con este estudio el concepto popular de que la *Chuquiraga spinosa* “Huamanpinta” presenta actividad antilitiásico y para el tratamiento de las inflamaciones de los riñones y de la próstata.

## CAPÍTULO V

### 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES:

1. El extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta presenta efecto anti litiasis, a las dosis de 500 y 1000 mg de extracto/Kg de peso corporal, expresado en la reducción del peso del órgano del riñón, ante la formación de cristales de oxalato de calcio.
2. El screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta determino la presencia de flavonoides (+++) compuestos fenólicos(+++), y alcaloides (+++)

## 4.2 RECOMENDACIONES:

1. Se recomienda el estudio total de la planta y ver si hay sinergismo de sus partes que ayuden a un efecto más rápido contra la litiasis renal.
2. Es recomendable que se hiciese un análisis más exhaustivo de la cuantificación de sus metabolitos secundarios en la planta de *Chuquiraga spinosa* -Huamanpinta para obtener la cantidad precisa de cada tipo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li E. El futuro de los productos andinos en la región alta y los valles centrales de los andes. Estado del arte del sector de plantas medicinales en Perú. Ministerio de la Producción. 2008.
2. Montealegre P, Francis L. Actividad antiinflamatoria y antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri* Harms en un modelo de inflamación intestinal agudo en ratas. *Rev Cubana Plan Med.* 2012; 17(4): 343-359
3. Chávez H, Molina A, Ramos R, Ferreyra C, Revatta L. Aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios bioactivos de *Chuquiraga spinosa* “huamanpinta”. I Congreso Internacional y III Congreso Nacional de investigación científica tecnológica. Libro de resúmenes. Ica-Perú. 2011
4. Gómez Dos Santos, V. y Burgos, F.J. Litiasis en el origen de Insuficiencia Renal Crónica. *Nefrología* 25: 82-88, 2005.
5. Germán Ramírez E. Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “Huamanpinta”. Universidad Mayor de San Marcos; Lima; 2014.
6. Anton Neyra R. Tratamiento endoscópico de la litiasis ureteral mediante láser Holmium en los pacientes del Servicio de Urología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza. (Tesis) Lima: Universidad Arzobispo Loayza;2013.
7. Jo MK, Kwak C, Park SK, Yoo K-Y, Kang D, Lee C, et al. Prevalence and epidemiologic characteristics of urolithiasis in Seoul, Korea. *Urology.* 2002;59(4):517–21.
8. Mallma y Vega. Efecto curativo del extracto hidroalcohólico de hojas de *Chuquiraga spinosa* Less “intipasapra” en la hiperplasia prostática benigna inducida por alcohol etílico en ratas. (Tesis). Lima: Universidad privada Norbert Wiener; 2015.
9. Condorhuamán, Rojas. Actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* (2016).

10. Ramírez Roca, E. Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladores del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “Huamanpinta”, (Tesis doctoral). Lima Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2014.
11. Dueñas, Alcívar. Determinación de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de *Chuquiraga Jussieui j.f Gmel* usando la lixiviación de muestras sólidas. (Tesis) Universidad Técnica de Manabí; 2016.
12. Dueñas Rivadeneira A et al. Evaluación del efecto hemolítico y antioxidante del extracto acuoso de la *Chuquiraga Jussieu*. (Tesis) ;2014
13. Morales Sánchez v.et al Evaluación del efecto antiurolítico del fruto de *Parmentiera aculeata* en rata wistar realizaron un estudio en México (tesis). México; 2015.
14. Chávez H, Molina A, Ramos R, Ferreyra C, Revatta L. Aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios. bioactivos de *Chuquiraga spinosa* “huamanpinta”. I Congreso Internacional y III Congreso Nacional de Investigación Científica Tecnológica. Libro de resúmenes. Ica, 2011.
15. Mostacero J. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. Editorial. CONCYTEC. La Libertad-Perú. 1993
16. Torres M. Actividad antiinflamatoria prostática del extracto atomizado de la especie *Chuquiraga spinosa lessing* “qarisirwi” en *Canis familiares*. Tesis de Químico Farmacéutico. Ayacucho-Perú. 2004
17. Gladys Tello, C. Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, Región Junín. [Tesis de licenciatura]: Lima, Universidad Nacional Agraria La Molina; 2015. Consultado el 10 de diciembre del 2017. Disponible en línea:<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdt?sequence=1>.
18. Dueñas, A. et al. Análisis fitoquímico y de seguridad de los extractos de *Chuquiraga jussieui* J. F. Gmel. *Centro Agrícola*, Cuba, 2014, vol. 41, No 2, pp. 79-84
19. Mendiando, M; Juarez, BE. Bioactivities of *Chuquiraga stramineas*. *Nat Prod Commun Journal*. USA 2011. Vol. 6, No 7, pp. 965-968.

20. Ávalos A. Pérez-Urria E., Metabolismo secundario de plantas – Reduca Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, 2009, marzo 2018, disponible en [http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo\\_secundario\\_de\\_plantas.pdf](http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf),
21. Kuklinski C.-.Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones omega, s.a. 2000. Primera reimpresión 2003.
22. Rbelaez M.; Velásquez A. 1993. Trasplante Renal. En: Fundamentos de Medicina. Nefrología. III Edición. Ediciones Rojo. Medellín, Colombia.
23. Pak CY, Britton F, Peterson R, Ward D, Northcutt C, Breslau NA et al. Ambulatory evaluation of nephrolithiasis. Classification, clinical presentation and diagnostic criteria. Am J Med. 1980; 69: 19-30
24. Gómez Dos Santos, V. y Burgos, F.J. Litiasis en el origen de Insuficiencia Renal Crónica. Nefrología 25: 82-88, 2005.
25. Henríquez C., Herrera J. Aspectos Clínicos de 116 pacientes formadores de cálculos renales. Investigación Clínica 26:103-105, 1985
26. Clendening L. Source Book of Medical History. New York: Dove Publications, 1942; 14
27. Curham GC, Willet WC, Rimm EB, Stampfer MJ. Family history and risk of kidney stones. J Am Soc Nephrol. 1997; 8: 1568-73
28. Fetter TL, Zimskind PD. Statistical analysis of patients with urinary calculi. JAMA. 1961; 186: 21.
29. Prince CL, Scardino PL. A statistical analysis of ureteral calculi. J urol. 1960; 83: 561-5
30. Finlayson B. Renal lithiasis in review. Urol Clin North Am. 1974; 1: 181-212
31. Brown CM, Purich DL. Physical chemical processes in kidney stone formation. In: Coe FM, Flavus MJ, editors. Disorders of bone and mineral metabolism. New York: Raven Press; 1992: 613-24
32. Menon M, Resnick MI. Urinary lithiasis: ethiology, diagnosis, and medical treatment. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED Jr, Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, editors. Campbell's Urology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2002; 3287-9
33. Solé FJ, Quintanilla B. Fisiopatología quirúrgica de la litiasis renal. En: Pinto, B, editores. Litiasis renal. Barcelona: Salvat; 1976: 80-95.

34. Pedrajas A, Arrabal M, Miján J, Rodríguez T. Epidemiología de la litiasis en la provincia de Granada. Arch Esp Urol. 1984; 37: 491-501
35. García Nieto V, Luis Yanez MI; Fraga Bilbao F. Litiasis renal. Lorenzo V, López Gómez JM (Eds) Nefrología al Día. Consultado el 12 de diciembre del 2017. Disponible en línea: <http://dev.nefro.elsivier.es/es-monografias-nefrologia-dia-articulo-litiasis-renal-5>
36. Eleanor L. (ed.) Diccionario AKAL de términos Biológicos. Ediciones Akal S.A., Madrid, España 2003.
37. Rosa Elena Dueñas. Extractos Naturales y plantas medicinales. Consultado el 10 de Enero del 2018. Disponible en línea: <https://redsa.com.mx/extractos-hidroalcoholicos.html>
38. Skoog, H., Holler, y Nieman. (1992). Principios de Análisis Instrumental. Madrid: Mc Graw Hill.
39. Thermo Spectronic (2001). Basic UV-Vis Theory: Concepts and Applications. Consulta: 16 de mayo de 2011.



# ANEXOS

**ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA**

**“EFECTO ANTILITIASIS DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta EN RATAS ALBINAS CEPA HOLTZMAN”**

| PROBLEMAS  | OBJETIVOS  | HIPÓTESIS   | VARIABLES   | DIMENSIONES   | INDICADORES  | METODOLOGÍA   |
|--|--|---|---|---|--|---|
| <p><b>GENERAL</b></p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i>-Huamanpinta poseerá efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman?</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b></p> <p>1.. ¿En qué concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i>-Huamanpinta posee efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman?</p> <p>2. ¿Qué metabolitos secundario presenta en mayor concentración el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta?</p> | <p><b>GENERAL</b></p> <p>Comprobar el efecto antilítico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i>-Huamanpinta en ratas albinas cepa Holtzman</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b></p> <p>1. Precisar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta con efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman.</p> <p>2. Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta.</p> | <p><b>GENERAL</b></p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta en ratas albinas cepa Holtzman posee efecto antilítico</p> <p><b>ESPECÍFICAS</b></p> <p>1. Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta con efecto antilítico en ratas albinas cepa Holtzman.</p> <p>2. Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta.</p> | <p><b>VI:</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> – Huamanpinta.</p> <p><b>VD:</b></p> <p>Efecto antilítico</p> <p><b>V. INT.</b></p> <p>Peso de los riñones de las ratas</p> | <p><b>VI:</b></p> <p>Estudio fitoquímico y estudio Farmacológico</p> <p><b>VD:</b></p> <p>Estudio Farmacológico</p> <p><b>V. INT.</b></p> <p>Magnitud</p> | <p><b>VI:</b></p> <p>Identificación de metabolitos secundarios</p> <p>Concentraciones a evaluar:</p> <p>250 mg/Kg<br/>500 mg/Kg<br/>1000 mg/Kg<br/>Etilenglicol 1%</p> <p><b>VD:</b></p> <p>Cambios en el peso de los riñones de las ratas medidos en la balanza.</p> <p><b>V. INT.</b></p> <p>Gramos de peso de los riñones de las ratas.</p> | <p><b>Diseño:</b><br/>Experimental</p> <p><b>Tipo:</b><br/>Aplicada</p> <p><b>Nivel:</b><br/>Exploratorio y descriptivo.</p> <p><b>Población:</b><br/>hojas de <i>Chuquiraga spinosa</i> - Huamanpinta, departamento de Junín, provincia de Jauja.</p> <p>Ratas albinas cepa Holtzman</p> <p><b>Muestra</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de Huamanpinta</p> <p><b>Técnicas:</b></p> <p>Estadístico Anova</p> |

## Anexo 2. Metabolitos Secundarios

### Prueba para Alcaloides:

Para la prueba de identificación de alcaloides se hacen ensayos generales como son (Wagner, Mayer, Dragendorff, Scheibler, Sonneschein y Reineckato) sobre el extracto de “Huamanpinta”, 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), da una coloración blanca a crema cuando se adiciona unas 3 a 5 gotas a la solución acidulada del extracto.

**Reactivo de Wagner.-** (yodo-yoduro de potasio), da una coloración marrón cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

**Reactivo de Dragendorff.-** (Yoduro de bismuto y potasio), da una coloración rojo a naranja cuando se adiciona unas 3 a 5 gotas a la solución acidulada del extracto.

**Reactivo de Scheibler.-** (Ácido fosfortungtico), da una coloración blanca cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

**Reactivo de Sonneschein.-** (Ácido fosfomolibdico), da una coloración naranja cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

**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 agrega de 3 a 5 gotas.

### Prueba de Flavonoides y Compuestos Fenólicos:

Las plantas sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante crecimiento y desarrollo, estos compuestos productos de la ruta biosintetica del ácido fenilpropanoico.

Es interesante señalar que este tipo de metabolitos por su estructura contiene 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), da coloraciones amarillas a rojas (flavonas y flavonoles), si la coloración es rojo a magenta (flavanonoles), si son coloraciones rojo, violeta o azul (flavanonas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta coloración pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas.

**Reactivo de Cloruro Férrico.-** (Cloruro férrico disuelto en agua), darán coloraciones azul, verde o negra cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba general.

**Reactivo de Gelatina al 1%.-** (Gelatina + cloruro de sodio), da un precipitado blanco cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba para taninos.

**Reactivo de Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger).-** Da una coloración roja al agregar de 3 a 5 gotas, prueba para identificar la presencia de Antraquinonas y Naftoquinonas.

### **ANEXO 3. Metabolitos Primarios**

#### **Prueba para Almidón:**

El almidón es una mezcla de dos polímeros en proporción variable estos son la amilosa y la amilopectina. Así como se realizó al extracto hidroalcohólico de las hojas de Chuquiraga spinosa –Huamanpinta.

**Reactivo de Lugol.-** A la muestra se le añade 3 gotas de Lugol si presenta una coloración oscura nos da la presencia de almidón en la muestra.

## Anexo 4.- Constancia de Práctica



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Servicio de Control de Calidad

Lima, 10 de noviembre del 2017

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

S.D.

Mediante la presente se pone en conocimiento lo siguiente:

La Bachiller **Srta. Puente Cabezas, Shellel Sahory y Vilcayauri Delgado, Ana María**, egresadas de la facultad de ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la prestigiosa Universidad Inca Garcilaso de la Vega; está haciendo su tesis de Investigación en "Efecto Antititiasis del extracto hidroalcolico de las hojas de Chuquiraga spinosa (Huamanpinta) en ratas albinas cepa Holtzman" en los laboratorios del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,

**Q.F. ERIK OLIVAR GALLEGOS**  
Coordinador de Aseguramiento de la Calidad

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN  
INVESTIGACIÓN

Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P.O. Box 4314, Lima 100  
Directo: (511) 483-2188 / Central: (511) 319-0000 anexos: 2424 ó 2427 / Fax: (511) 382-0321  
e-mail: [control.calidad@oficinas-upch.pe](mailto:control.calidad@oficinas-upch.pe) / [leon.villegas@upch.pe](mailto:leon.villegas@upch.pe)  
Página Web: [www.upch.pe](http://www.upch.pe)

## Anexo 5.- Constancia Botánica



### CERTIFICACION BOTANICA

El profesional que suscribe certifica que la muestra vegetal identificada es la planta de *Chuquiraga spinosa* - Huamanpinta y cumple con la siguiente Clasificación Taxonómica:

#### Clasificación Taxonómica

|          |                           |
|----------|---------------------------|
| Reino    | Plantae                   |
| Phylum   | Tracheophyta              |
| Clase    | Magnoliopsida             |
| Orden    | Asterales                 |
| Familia  | Asteraceae                |
| Género   | Chuquiraga                |
| Especie  | <i>Chuquiraga spinosa</i> |
| N. común | Huamanpinta               |

Se expide el presente para los fines pertinentes,

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN INVESTIGACIÓN

Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P.O. Box 4314, Lima 100  
Directo: (511) 483-2188 / Central: (511) 318-0000 anexos: 2424 5 2427 / Fax: (511) 382-0321  
e-mail: [control-calidad@oficinas-upch.pe](mailto:control-calidad@oficinas-upch.pe) / [leon.villegas@upch.pe](mailto:leon.villegas@upch.pe)  
Página\_Web: [www.upch.pe](http://www.upch.pe)

## Anexo 6. -Testimonio fotográfico

### a. Planta de *Chuquiraga spinosa*-Huamanpinta.



### b. Secado de las hojas de Huamanpinta en la estufa a 40 °C

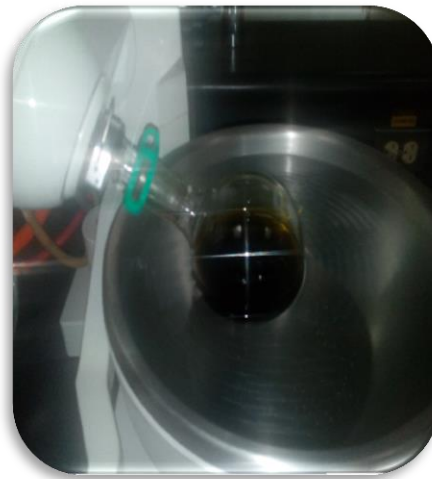




**c. Filtrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de Huamanpinta**



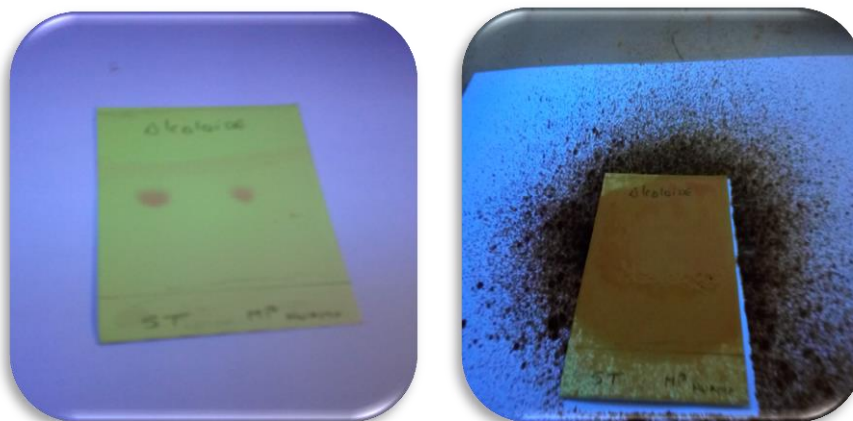
**d.- La muestra filtrada en el Rota vapor y luego en la Estufa**



**e.- Muestra seca de las hojas de Huamanpinta**



**f.- Cromatografía en capa fina del extracto de Huamanpinta – Alcaloides**



**g.- Cromatografía en capa fina del extracto de Huamanpinta – Flavonoides**



**h.- Ingreso al Bioterio**



**i.- Ratas machos cepa Holtzman en jaulas de polipropileno**



**j.- Pesado de las ratas albinas cepa Holtzman**



**k.- Inoculación del extracto de Huamanpinta**



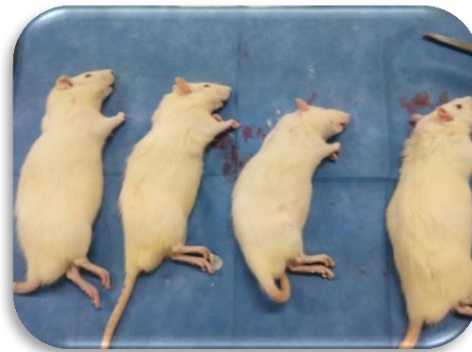
**l.- Eutanasia por dislocación cervical de todos los animales**



## II.-Animales muertos luego de la dislocacion cervical



## m.- Disección de la rata



**n.- Visualizacion de los riñones**



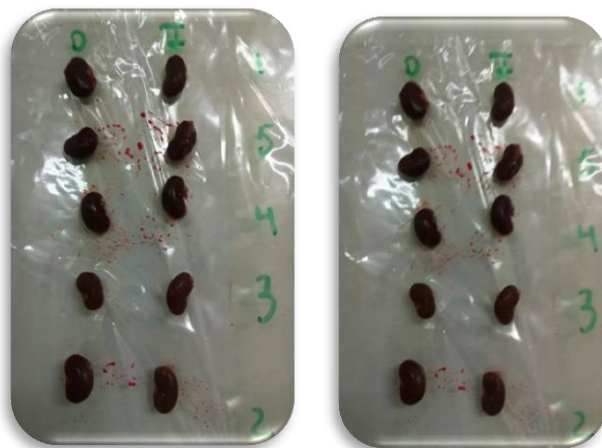
**ñ.- Pesaje de los riñones del Control Negativo (animales sanos)**



**o.- Pesaje de riñones en mg/Kg**



**p.- Muestra de riñones de las diferentes concentraciones**

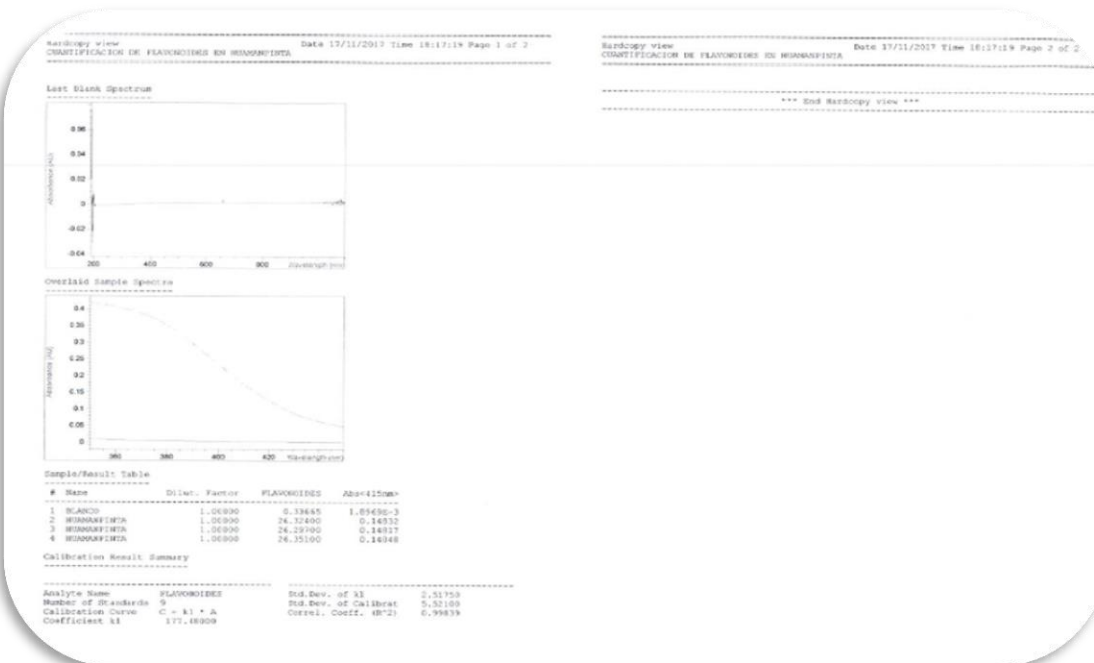
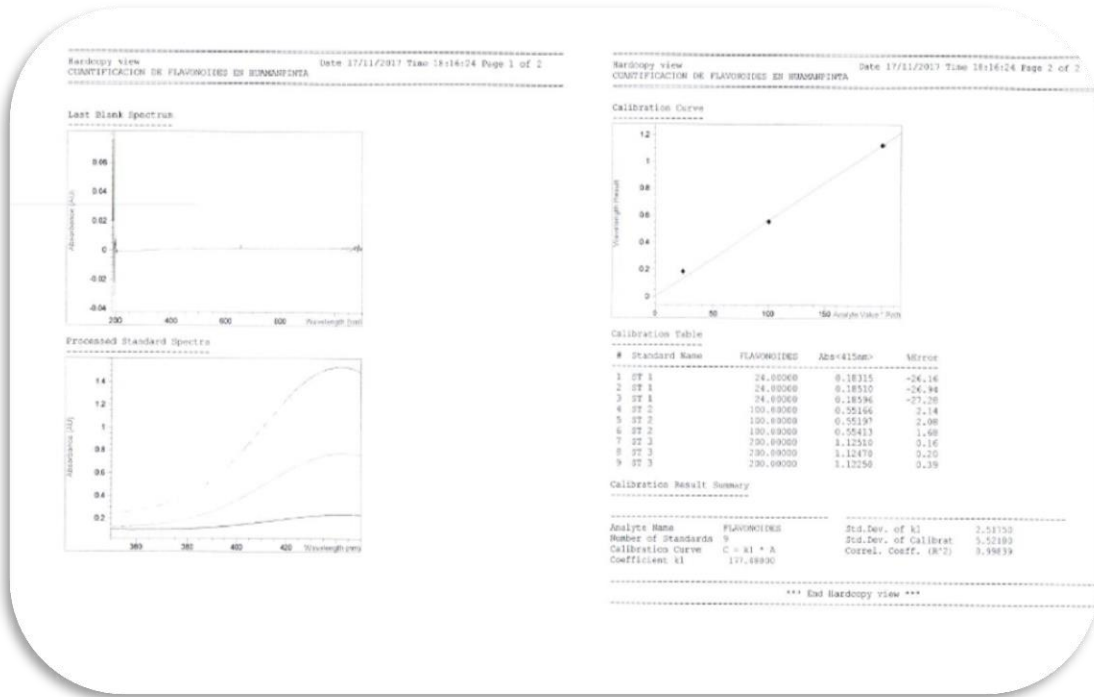




**q.- Lesiones originadas por el etilenglicol**



# Anexo 7.- Cuantificación de Flavonoides totales por espectrofotometría UV-VIS



## Anexo 8.- Cálculos de Flavonoides Totales en Excel

| SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD  |   | Código y Versión:<br>PQ-FR-035.00                        |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
|---|---|--|-------------------|-------------|---------------------------|---------|------------------------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|---------|---|---------|---------|--|
| ÁREA DE ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS   |   | Fecha de Emisión:<br>2016-01-11                          |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| REPORTE DE CONTENIDO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV- Vis   |   | Página 1 de 1  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>DATOS DEL PRODUCTO:</b>  |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Nombre:   | EXTRACTO DE LAS HOJAS DE HUAMANPINTA                    | Fabricante:  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Presentación:   | Muestra Líquida   | Fecha de Vencimiento:                                    |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Lote:   |   | Norma Técnica:   |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Código SCC-UPCH:  |   | Técnica Interna SCC-UPCH                                 |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
|   |   | Fecha de análisis:                                       |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>SISTEMA ESPECTROFOTOMÉTRICO:</b>   |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Equipo:   | ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS                                | Código:  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Longitud de onda:   | 415 nm  | EQ-FQ-32   |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>DATOS DEL ESTANDAR:</b>  |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Nombre:   | QUERCITINA  | Primario:  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| LOTE:   | A104792 012   | Secundario:  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Potencia:   | 100.0 % T/C   | Working Std:   |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Peso molecular en forma de Sal:   |   | Fecha de Vencimiento:                                    |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Peso molecular en forma de Base:  |   | Código:  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Peso:   | 100.0 mg  | Humedad:   |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Diluciones de la curva:   |   | Volumen ensaye:  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 24 mg/mL. Val. dilución I: 1.2 mL. Val. ensaye I: 50 mL.  | 100 mg/mL. Val. dilución I: 5 mL. Val. ensaye I: 50 mL. | 200 mg/mL. Val. dilución I: 10 mL. Val. ensaye I: 50 mL. |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <table border="1" style="margin: auto;"> <thead> <tr> <th>mg/mL</th> <th>Factor de corrección</th> <th>(mg/mL) Corregido</th> <th>Absorbancia</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.02400</td><td>1</td><td>0.02400</td><td>0.18115</td></tr> <tr><td>0.02400</td><td>1</td><td>0.02400</td><td>0.18510</td></tr> <tr><td>0.02400</td><td>1</td><td>0.02400</td><td>0.18596</td></tr> <tr><td>0.10000</td><td>1</td><td>0.10000</td><td>0.55146</td></tr> <tr><td>0.10000</td><td>1</td><td>0.10000</td><td>0.55197</td></tr> <tr><td>0.10000</td><td>1</td><td>0.10000</td><td>0.55413</td></tr> <tr><td>0.20000</td><td>1</td><td>0.20000</td><td>1.12510</td></tr> <tr><td>0.20000</td><td>1</td><td>0.20000</td><td>1.12470</td></tr> <tr><td>0.20000</td><td>1</td><td>0.20000</td><td>1.12250</td></tr> </tbody> </table> | mg/mL   | Factor de corrección                                     | (mg/mL) Corregido | Absorbancia | 0.02400                   | 1       | 0.02400                | 0.18115 | 0.02400 | 1 | 0.02400 | 0.18510 | 0.02400 | 1 | 0.02400 | 0.18596 | 0.10000 | 1 | 0.10000 | 0.55146 | 0.10000 | 1 | 0.10000 | 0.55197 | 0.10000 | 1 | 0.10000 | 0.55413 | 0.20000 | 1 | 0.20000 | 1.12510 | 0.20000 | 1 | 0.20000 | 1.12470 | 0.20000 | 1 | 0.20000 | 1.12250 |  |
| mg/mL   | Factor de corrección                                    | (mg/mL) Corregido  | Absorbancia       |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.02400   | 1   | 0.02400  | 0.18115           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.02400   | 1   | 0.02400  | 0.18510           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.02400   | 1   | 0.02400  | 0.18596           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.10000   | 1   | 0.10000  | 0.55146           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.10000   | 1   | 0.10000  | 0.55197           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.10000   | 1   | 0.10000  | 0.55413           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.20000   | 1   | 0.20000  | 1.12510           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.20000   | 1   | 0.20000  | 1.12470           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| 0.20000   | 1   | 0.20000  | 1.12250           |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Ecuación de la recta: $y = 5.3567x + 0.042$   |   | $a = 5.3567$<br>$b = 0.042$                              |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>DATOS DE LA MUESTRA</b>  |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| Peso o volumen de muestra:  | 0.20 mg   | Volumen de ensaye:                                       |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
|   |   | 20 mL  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>CÁLCULOS:</b>  |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <table border="1" style="margin: auto;"> <thead> <tr> <th>MUESTRA</th> <th>ABSORBANCIA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MUESTRA A1</td> <td>0.14832, 0.14817, 0.14848</td> </tr> </tbody> </table>  |   | MUESTRA  | ABSORBANCIA       | MUESTRA A1  | 0.14832, 0.14817, 0.14848 |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| MUESTRA   | ABSORBANCIA   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| MUESTRA A1  | 0.14832, 0.14817, 0.14848                               |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <table border="1" style="margin: auto;"> <thead> <tr> <th>MUESTRA</th> <th>mg/mL</th> <th>RSD</th> <th>PROMEDIO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MUESTRA</td> <td>1.9857, 1.9829, 1.9887</td> <td>0.1457</td> <td>1.99</td> </tr> </tbody> </table>   |   | MUESTRA  | mg/mL             | RSD         | PROMEDIO                  | MUESTRA | 1.9857, 1.9829, 1.9887 | 0.1457  | 1.99    |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| MUESTRA   | mg/mL   | RSD  | PROMEDIO          |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| MUESTRA   | 1.9857, 1.9829, 1.9887                                  | 0.1457   | 1.99              |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>RESULTADOS:</b> 6.82 mg de Quercitina/mL de extracto   |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES:</b> Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto  |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| <b>CONCLUSIÓN:</b>  |   |  |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |
| E.OLIVAR<br>ANALISTA  |   | 2017-11-17<br>FECHA DE REPORTE                           |                   |             |                           |         |                        |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |         |   |         |         |  |

