

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO
DE LAS HOJAS DE *Baccharis trimera* (CARQUEJA) EN
RATAS**

Para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTA:

Bachiller: Eliana Chipa Aybar

Bachiller: Silvano Andres Dolorier de la Cruz

ASESOR:

Mg. Henry Sam Montellanos Cabrera

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

El presente trabajo es dedicado a DIOS por mantenerme bien de salud y darme las fuerzas para levantarme en los momentos difíciles y de esta manera poder cumplir con mis objetivos propuestos.

A mis padres Gregorio Chipa Camacho y Julia Aybar Tejada, por ser mi fuente de inspiración, por depositar su confianza en mí y por los consejos que me han dado durante toda mi vida.

De manera especial a mi hija adorada Nicole Chávez Chipa por el tiempo que estuve ausente y su apoyo incondicional.

A mis hermanos por ser el primer cimiento para mi vida profesional, gracias por brindarme su cariño y su comprensión.

ELIANA

DEDICATORIA

A Dios por mantenerme en este camino de bien, por darme las fuerzas en todo momento y de esta manera cumplir con éxito mis metas planteados en esta etapa de mi vida.

A mi Madre Domitila De La Cruz Ore, también a mi Hermana Vilma Dolorier De La Cruz, por depositar su confianza en mí, por sus sabios consejos, por sus ejemplos de responsabilidad y valores.

SILVANO

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por darnos la oportunidad de desarrollar nuevos conocimientos y formarme profesionalmente en mi carrera profesional, así mismo, a todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en el aprendizaje, por sus sabios consejos y conocimientos

A nuestro asesor de tesis, el Mg. Henry Sam Montellano Cabrera, por su apoyo y orientación que permitieron la realización y culminación del presente trabajo.

Al Sr Jesús Vivas, por su profesionalismo, acertados consejos, orientación y apoyo que permitieron la realización del presente trabajo.

ELIANA Y SILVANO

RESUMEN

La biodiversidad más grande, reconocida a nivel mundial de especies vegetales, animales y minerales, se encuentra en el Perú. Nuestro país tiene un enorme potencial terapéutico en sus recursos naturales que es necesario investigar, sobre todo con las especies vegetales. Este es el caso de la *Baccharis trimera* (Carqueja) planta poco estudiada, pero con un inmenso potencial medicinal. El objetivo de estudiar esta planta fue el de determinar la actividad diurética del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) y además identificar sus metabolitos. El método utilizado fue el propuesto por Naik y Col con modificaciones. Se evaluó la Dosis letal 50 (DL50) y la toxicidad oral a dosis repetidas durante 28 días. La preparación del extracto hidroalcohólico se realizó por el Método de Olga Lock Sing de Ugaz. Se prepararon 3 concentraciones 250 mg/Kg, 500 mg/Kg 1000 mg/kg. La marcha fitoquímica empleo el método descrito por Domínguez. Para la medición del volumen urinario se utilizaron jaulas metabólicas adaptadas con probetas. Como control positivo se empleó la furosemida a 20mg/Kg peso y la administración fue por vía intraperitoneal. Los metabolitos encontrados fueron flavonoides, fenoles, alcaloides, y azúcares reductores. Los resultados de la diuresis reportaron a la concentración de 250 mg/Kg, una media de diuresis de 8.08 ml, la concentración al 500 mg/Kg de concentración, reporto una media de diuresis de 12.62 ml y la concentración al 1000 mg/kg reporto 13.04 ml de valor medio de diuresis. Se aprecia un incremento en la frecuencia de diuresis por los animales de experimentación. No existe evidencias visuales de daño en los animales de experimentación, sin embargo, el medicamento de referencia furosemida, resulto tener mejor actividad diurética 16.60 ml. Se concluye que: El extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) posee actividad diurética y puede ser una alternativa como tratamiento coadyuvante para aquellos pacientes que sufren de edema o enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: Diuréticos, actividad diurética, metabolitos, extracto etanolico.

ABSTRACT

The world's largest recognized biodiversity of plant, animal and mineral species is found in Peru. Our country has enormous therapeutic potential in its natural resources that need to be investigated, especially with plant species. This is the case of the *Baccharis Trimeria* (Carqueja) little studied plant, but with an immense medicinal potential. The objective of studying this plant was: To determine the diuretic activity of the ethanol extract of the leaves of *Baccharis Trimeria* (Carqueja) and also to identify its metabolites. The method used was the one proposed by Naik and Col with modifications, the lethal dose 50 (LD50) and oral toxicity at repeated doses for 28 days were evaluated. The preparation of the hydroalcoholic extract was carried out by the Olga Lock Sing method of Ugaz, 3 concentrations 250 mg / kg, 500 mg / kg 1000 mg / kg were prepared. The phytochemical march used the Dominguez method. For the measurement of the urinary volume, metabolic cages adapted with test tubes were used. As a positive control, furosemide was used at 20mg / Kg weight intraperitoneally. The metabolites found were flavonoids, phenols, alkaloids, and reducing sugars. The results of the diuresis reported the concentration of 250 mg / Kg, reached a diuresis percentage of 8.08 ml, the concentration at 500 mg / Kg 12.62 ml and the concentration at 1000 mg / kg 13.04 ml. There is an increase in the frequency of diuresis by the experimental animals. There is no visual evidence of damage in the experimental animals; however the reference drug furosemide, resulted to have better diuretic activity 16.60 ml. It is concluded that: The ethanolic extract of the leaves of *Baccharis Trimeria* (Carqueja) possesses diuretic activity and can be an alternative as a coadjuvant treatment for those patients suffering from edema or cardiovascular diseases.

Key words: Diuretics, diuretic activity, metabolites, ethanol extract

ABREVIATURAS

mg	Miligramos
kg	Kilogramos
ml	Mililitro
HCL	Ácido clorhídrico
Cc	Centímetro cubico
V	Número cinco
X	Número diez
NaOH	Hidróxido de sodio
Fe(OH) ₃	Hidróxido férrico
Mg ⁺⁺	Magnesio metálico

INDICE

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Abreviaturas	
	Página
Introducción	1
CAPÍTULO I. PROBLEMA DE INVESTIGACION	2
1.1 Descripción de la realidad problemática	2
1.2 Formulacion del Problemas	2
1.2.1 Problema general	2
1.2.2 Problemas específicos	2
1.3 Objetivos	3
1.3.1Objetivo general	3
1.3.2Objetivos específicos	3
1.4 Justificación e importancia del estudio	3
1.5 Limitaciones metodológicas	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes del estudio	5
2.1.1 Antecedentes internacionales	5
2.1.2 Antecedentes nacionales	10
2.2 Bases teóricas	14
2.2.1 <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja)	14
2.2.1.1 Descripción científica	14
2.2.1.2 Taxonomía	15
2.2.1.3 Descripción botánica	15

2.2.1.4 Fisiología de la planta	16
2.2.1.5 Composición Química	16
2.2.1.6 Usos populares significativos	17
2.2.1.7 Características para el Desarrollado de la planta	18
2.2.2 Diuréticos	20
2.2.2.1 Tipos de diuréticos empleados en medicina	20
2.2.2.1.1 Diuréticos osmóticos	20
2.2.2.1.2 Diuréticos inhibidores de los túbulos renales	21
2.2.2.1.3 Inhibidores de la anhidrasa carbónica	21
2.2.2.1.4 Benzotiadiazinas y diuréticos relacionados	21
2.2.2.1.5 Diuréticos ahorradores de potasio	22
2.2.2.1.6 Diuréticos de asa (alta eficiencia)	22
2.2.2.1.7 Diuréticos que Incrementan el Flujo Sanguíneo Renal	23
2.2.2.1.7. Teofilina	23
2.2.2.1.8 Cafeína	24
2.2.2.1.9 Plantas medicinales	25
2.2.3 Extractos vegetales	26
2.2.4 Extracto Fluido	28
2.3 Hipótesis	30
2.3.1 Hipótesis general	30
2.3.2 Hipótesis específicas	30
2.4 Variables	30
Variable independiente	30
Variable Dependiente	30
2.4.1 Tabla de operacionalización de variables	30
2.5 Marco conceptual	31
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	34
3.1 Tipo de estudio	35
3.2 Diseño a utilizar	35
3.3 Población	36
3.4 Muestra	37
3.5 Técnicas e instrumento de recolección de datos	41
3.6 Procesamiento de datos	42

CAPÍTULO IV. PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS	43
4.1 Presentación	43
4.2 Contrastación de Hipótesis	56
4.3 Discusión	56
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
5.1 Conclusiones	58
5.2 Recomendaciones	58
REFERENCIAS	59
ANEXOS	63

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA N1 Tratamiento farmacológico	41
TABLA N2: Marcha de solubilidad del extracto etanólico de hojas de Carqueja <i>Baccharis trimera</i>	43
Tabla N3: Marcha fitoquímica extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja)	44
TABLA N°4 Valores de volumen de orina a determinados tiempo en ml (Blanco)	45
TABLA N°5 Valores de frecuencia de orina a determinados tiempo (Blanco)	46
TABLA N°6 Valores de volumen de orina a determinados tiempo en ml (Furosemina 20 mg/kg)	47
TABLA N°7 Valores de frecuencia de orina a determinados tiempo (Furosemida 20 mg/kg)	48
TABLA N°8 Valores de volumen de orina a determinados tiempo en ml extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 250mg/Kg	49
TABLA N°9 Valores de frecuencia de orina a determinados tiempo extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) ,250 mg/Kg	50
TABLA N°10 Valores de volumen de orina a determinados tiempo en ml extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 500 mg/Kg	51
TABLA N°11 Valores de frecuencia de orina a determinados tiempo extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 500 mg/Kg	52
TABLA N°12 Valores de volumen de orina a determinados tiempo en ml extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 1000mg/Kg	53
TABLA N°13 Valores de frecuencia de orina a determinados tiempo extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 1000 mg/Kg	54
TABLA N°14 Valores de % de diuresis con respecto al blanco	55
TABLA N°15 Valores de % de diuresis con respecto al tratamiento extracto etanólico de las hojas de <i>Baccharis trimera</i> (carqueja)	55

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA N1: <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja)	15
FIGURA N2: Composición química de <i>baccharis trimera</i> (Carqueja)	17
FIGURA N3 Estructura química del manitol	20
FIGURA N4 Estructura química de la acetazolamida	21
FIGURA N 5 Estructura química de la hidroclorotiazida	22
FIGURA N6 Estructura química de la espironolactona	22
FIGURA N7 Estructura química de la furosemida	23
FIGURA N8 Estructura de la teofilina	24
FIGURA N9 Estructura química de la cafeína	25

ÍNDICE DE GRAFICOS

	Página
GRAFICO N°1 Volumen de orina “blanco”	45
GRAFICO N°2 Frecuencia de orina “blanco”	46
GRAFICO N°3 Volumen de orina “furosemida	47
GRAFICO N°4 Frecuencia de orina “furosemida	48
GRAFICO N°5 Volumen de orina <i>baccharis trimera</i> 250 mg/kg	49
GRAFICO N°6 Frecuencia de orina <i>baccharis trimera</i> 250mg/Kg	50
GRAFICO N°7 Volumen de orina <i>baccharis trimera</i> 500mg/kg	51
GRAFICO N°8 Frecuencia de orina <i>baccharis triemera</i> 500mg/kg	52
GRAFICO N°9 Volumen de orina <i>baccharis trimera</i> 1000mg/kg	53
GRAFICO N°10 Frecuencia de orina <i>baccharis triemera</i> 1000mg/kg	54

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo N° 1 Selección de la planta	63
Anexo N° 2 Lavado de la planta	63
Anexo N° 3 Secado de la planta	64
Anexo N° 4 Trituración de la planta	64
Anexo N° 5 Preparación del extracto	65
Anexo N° 6 Filtrado del extracto	65
Anexo N° 7 Secado del extracto	66
Anexo N° 8 Obtención del extracto	66
Anexo N° 9 Prueba de solubilidad	67
Anexo N° 10 Marcha Fitoquímica	67
Anexo N° 11 Administraciones del control	68
Anexo N° 12 Administración del extracto	68
Anexo N° 13 Volumen de orina	69
Anexo N° 14 Frecuencia de orina	69
Anexo N° 15 Actividad diurética	69
Anexo N° 16 Certificado de la especie botánica en estudio	70
Anexo N° 17 Certificado del bioterio de adquisición de ratas	71
Anexo N° 18 Juicio de expertos	72
Anexo N° 19 Matriz de consistencia	73

INTRODUCCIÓN

Los investigadores siempre están a la búsqueda de un buen activo biológico para tratar las afecciones. Una nueva infusión, macerado, cataplasma, emplasto o simplemente una preparación artesanal novedosa.

La prevención y sobre todo la cura de las enfermedades en los países del tercer mundo, se hacen cada vez más necesarios y el empleo de medicina tradicional es hoy una técnica muy recurrida por la población (1).

En esta circunstancia se hace necesario la utilización de novedosos tratamientos, innovadores y radicales para combatir las enfermedades emergentes y las nuevas enfermedades estacionarias en nuestro país (1).

Bajo el nombre de Carqueja, se conoce a la especie de ***Baccharis trimera***, esta planta amazónica es un arbusto que crece en muchos países de Sudamérica, es apreciada por sus grandes beneficios medicinales, utilizándose la planta en su totalidad.

Los países donde se cultiva la Carqueja, la han estudiado por sus bondades terapéuticas y algunas preparaciones y metabolitos ya figuran en las respectivas farmacopeas de sus países (2)

Los metabolitos presentes en la Carqueja son los de tipos flavonoides (hasta un 20%), y los ácidos cafeoilquínicos y terpenoides, siendo los ácidos cafeoilquínicos los compuestos bioactivos principales responsables de la actividad farmacológica y terapéuticas en algunas plantas medicinales, también los principios amargos, lignanos, saponinas, pectinas y aceites esenciales, le proporcionan un amplio espectro de propiedades medicinales.

CAPÍTULO I.

PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1 Descripción de la realidad problemática

Muchas personas padecen en diferentes etapas de su vida de edema o retención de líquidos en sus tejidos. Dependiendo de los órganos sistemas afectados, esta afección puede convertirse en peligrosa para la salud o simplemente de tratamiento benigno. Un rápido y certero diagnóstico puede evaluar la gravedad de la problemática haciendo que se tome medidas para evitarla y tratarla.

Cuando la afección causa problemas circulatorios, esta debe ser controlada a tiempo, la retención de líquidos puede darse también por la presencia de algunas enfermedades como es la cirrosis hepática, daño renal o problemas circulatorios. (2). En el Perú muchas personas padecen de retención de líquidos y usan medicamentos comerciales, lo que hacen que aparezcan reacciones adversas o que se descompensen las personas por lo enérgico de sus efectos, por lo tanto, utilizar una alternativa natural puede ser la mejor solución. La medicina natural y alternativa ofrece una serie de productos naturales para controlar la retención de líquidos, de muchos se han comprobado su eficacia, de otros, como es el caso de la carqueja, recién se están estudiando científicamente, por lo tanto, hay que valorar la actividad terapéutica de esta planta y sus metabolitos.

1.2 Problemas

1.2.1 Problema general

¿Presenta actividad diurética el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja)?

1.2.2 Problemas específicos

¿Qué metabolitos presenta el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja)?

¿En qué concentración el extracto etanólico de las hojas de **Baccharis trimera** (*Carqueja*) posee actividad diurética experimentada en ratas albinas?

¿Cuál es el porcentaje de actividad diurética del extracto etanólico de las hojas **Baccharis trimera** (*Carqueja*) en comparación con el Lasix^R?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar la actividad diurética del extracto etanólico de las hojas de **Baccharis trimera** (*Carqueja*).

1.3.2 Objetivos específicos

Obtener el extracto etanólico de las hojas de **Baccharis trimera** (*Carqueja*) e identificar los metabolitos presentes.

Determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de **Baccharis trimera** (*Carqueja*) que posee actividad diurética experimentada en ratas albinas.

Evaluar el porcentaje de actividad diurética del extracto etanólico de las hojas **Baccharis trimera** (*Carqueja*) en comparación con el Lasix^R.

1.4 Justificación

La presente investigación fue de interés porque contribuyó con la fitoterapia, investigando y descubriendo actividades farmacológicas en plantas poco estudiadas.

La investigación fue importante porque se pudo ayudar al sistema de salud con medicamentos naturales y nuevas alternativas terapéuticas.

Fue novedosa, porque utilizó una especie vegetal común en nuestro país, pero se le dio otra aplicación y más importante, frente a la pérdida de actividad de los medicamentos comunes.

Fue factible y viable, puesto que se contó con la especie biológica de estudio y además la universidad contaba con todos los materiales reactivos y equipos para desarrollar este proyecto, además, que el costo de investigación no fue muy elevado lo cual permitió terminar con éxito la parte experimental.

Fue importante ya que se beneficiarán los agricultores y comuneros que cultivan estas especies y que podrán comercializarla a un precio razonable.

Limitaciones metodológicas

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

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio:

En los últimos años la industria farmacéutica ha alcanzado un nivel importante en el desarrollo y descubrimiento de nuevos productos para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, laboratorios como Sanofi Aventis, Pfizer, invierten millones de dólares en producir medicamentos seguros y eficaces, esto a la par de las investigaciones realizadas por universidades en la continua búsqueda de productos innovadores.

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Bastidas F. (2016) realizó la evaluación de la actividad diurética de *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi” en ratas albinas”. Para la siguiente fase experimental fue necesario usar 68 ratas albinas machos con peso de 260 g y la metodología usada fue la de *Lipschitz*, este método establece la medición de la orina por hora por espacio de 6 horas, los animales fueron acondicionados en jaulas metabólicas para su separación y cuantificación de orina. Los grupos a experimentar fueron los siguientes: Control (suero fisiológico al 0.9%), chuchuhuasi 1 (250mg/kg), chuchuhuasi 2 (500mg/kg), chuchuhuasi 3 (750mg/kg), hojas de chuchuhuasi 4 (1000mg/kg), furosemida 1 (10mg/kg) y furosemida 2 (20mg/kg). La parte estadística estimó la utilización del método de Shapiro-Wilk, Tukey y Dunns. Los resultados demostraron que una excreción de 5.20 mL para la muestra 1, siendo este valor superior al del control que fue furosemida. Conclusión: Se demuestra una respuesta diurética positiva en todos los niveles de dosis ensayadas del extracto etanólico de *Maytenus macrocarpa*: 250, 500, 750 y un mayor efecto 1000 mg/kg de peso, al compararlos con el grupo control y la Furosemida (13).

Castillo S. et al (2011) evaluó el efecto diurético de *Phyllanthus niruri* (Chanca piedra) en ratas albinas. se utilizaron 30 animales de experimentación, los cuales fueron aclimatados por 7 días y puestos en ayunas por 15 horas, los animales fueron acondicionados en jaulas metabólicas para el control de los

niveles de diuresis. Los animales fueron administrados siguiendo el siguiente modelo: solución salina fisiológica, 8mg/Kg de hidroclorotiazida y 10mg/Kg de extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus niruri* para el grupo control, patrón y problema respectivamente. Los resultados demostraron que *Phyllanthus niruri* (Chanca piedra), posee efecto diurético al reportar un volumen urinario de 10.5ml valor diferente a los otros tratamientos, con lo cual se concluye que tiene capacidad diurética (14).

Apesteagua J. (2009) realizó una evaluación para determinar la actividad diurética del zumo del fruto del limón (*Citrus limón L*), para la parte experimental, se utilizó el método de Naiv. V., R. et al (1981), se utilizaron ratas hembras Holtzman y las dosis estuvieron estimadas en 180 mg/Kg, 540 mg/Kg y 900 mg/Kg de peso corporal en un volumen de 25mL/Kg. Las ratas fueron acondicionadas en jaulas metabólicas, las cuales reportarían un volumen de orina a las 30, 60, 90, 180, 270 y 360 minutos de realizar la experimentación, además se midió el pH y se cuantificó los electrolitos presentes en la orina. El zumo del fruto del limón produce una acción diurética, elevando el pH, electrolitos y volúmenes urinarios y que es seguro de administrar hasta una dosis de 5,000 mg/Kg en una sola toma en 24 horas (15).

Ore de la Paz J. (2015) Realizó un trabajo experimental en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga con la finalidad de determinar el potencial diurético de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Aeonium arboreum (L). Webb. & Berth.* "Rosa verde" y a su vez cuantificar la presencia de cationes solubles. Para este ensayo se utilizaron cuyes de 3 meses de edad aproximadamente y de un peso de 250 – 350g de peso respectivamente. Con el extracto elaborado se realizó la marcha fitoquímica para determinar la presencia de metabolitos responsables de la actividad terapéutica encontrándose taninos, saponinas, fenoles, alcaloides y flavonoides. El modelo farmacológico usado fue el descrito por Naik et al., los cuyes fueron repartidos en 5 grupos homogéneos, dos controles y tres muestras problemas. Se usó furosemida como control positivo, suero fisiológico como control negativo y tres concentraciones de trabajo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Aeonium arboreum (L). Webb. & Berth.* "rosa verde" a razón de 400, 200 y 100 mg/Kg. los animales fueron colocados en jaulas metabólicas especialmente

acondicionado para las pruebas y la orina fue medida en probetas. El máximo porcentaje de orina fue con la concentración de 400 mg/kg recolectándose un volumen de 30,3 mL sin embargo la furosemida alcanzo un volumen de 67 mL. Queda demostrado que experimentalmente el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Aeonium arboreum (L). Webb. & Berth.* "rosa verde" presenta una moderada actividad diurética (16).

Martinez E. (2015) Realizó un trabajo experimental en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga con la finalidad de determinar el potencial antihipertensivo del extracto etanólico de *Aguaymanto Physalis peruviana L.* para esta investigación fue necesario llegar al departamento de Ayacucho localidad Quiturara del distrito de Huamanguilla Huanta donde en estado silvestre crece este fruto. El extracto etanólico fue evaluado mediante la marcha fitoquímica para determinarlos principales metabolitos secundarios encontrándose saponinas, lactonas y/o cumarinas, cardenólidos, esteroides y triterpenos, azúcares flavonoides, taninos, fenoles, catequinas, alcaloides. Para la prueba farmacológica se eligió el método de Miranda y Cuellar, los cuales provocan la inducción de la hipertensión con la administración de L-NAME. Para el estudio se contó con 40 ratas machos de la raza Holtzman, de aproximadamente 370 -360 g de peso. Las ratas fueron divididas en grupos control y grupos de trabajo, los grupos de trabajo fueron 100, 200, 400 y 600 mg/kg, dos grupos de animales recibieron losartan y captopril respectivamente. El equipo adquirido para la monitorización de la presión arterial fue el tensiómetro indirecto no invasivo (Panlab). Los valores de eficacia antihipertensiva fueron de 31,3%, 32%, 49,5% y 19,4% a la dosis de 100, 200, 400 y 600 mg/kg respectivamente, mientras que el captopril fue de 97,2% y losartán de 99,8% de eficacia. Se concluye que el extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana L.* "aguaymanto" tiene efecto antihipertensivo (17).

Ramírez R. (2013) realizo el efecto Hipotensor in vivo del extracto seco acuoso de las partes aéreas de *Urtica magellanica* (ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME y Determinación de la Toxicidad aguda". Para esta investigación se utilizó ratas Holtzman machos de 300g de peso acondicionadas en jaulas metabólicas aclimatadas en el bioterio a las cuales se

les determinó la presión arterial. Luego de determinar la presión arterial, esta fue incrementada tras la administración de N-Nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) a dosis de 40 mg/kg/día por vía oral durante 05 días. Pasado el tiempo se volvió a medir la presión arterial y se registró en la ficha. Los animales fueron divididos en 6 grupos. Los resultados demostraron que la *Urtica magellanica* (ortiga) provoca un descenso de la presión arterial durante el tiempo de tratamiento a la dosis de 200mg/Kg. Al comparar con el control enalapril, el extracto resultó mejor. Finalmente se demostró que el extracto *Urtica magellanica* (ortiga) presenta efecto hipotensor (18).

Ramírez Cruz F. (2010) realizó una investigación para determinar el efecto gastroprotector y diurético del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua". Para esta experimentación se usaron ratas albinas machos de 250 -350 g de peso, jaulas metabólicas para determinar la capacidad diurética y set quirúrgico para determinar la actividad gastroprotectora. Los grupos de experimentaciones estuvieron divididos en: control positivo, que utilizó el fármaco anti ulceroso de omeprazol, el control negativo empleó el uso de cloruro de sodio al 0,9% y los extractos estuvieron dosificados al 100 y 200 mg/kg. Los resultados demostraron que el extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* L posee acción gastroprotector y diurético. (19).

López Cabanilla R. (2017) desarrollo la evaluación para determinar el efecto antiurólítica del extracto etanólico de propóleo ayacuchano en ratas". Para esta investigación se formaron los grupos a razón de control (1 mL de etilenglicol al 5% y 1 mL cloruro de amonio al 5%) y tres grupos tratados con el extracto etanólico de propóleo a dosis diaria de 250, 350 y 500 mg/Kg. Se les administró el producto por vía oral gástrica durante dos semanas de tratamiento. Los valores estimados en el análisis contemplo la medición del volumen urinario, el pH, la velocidad de sedimentación la presencia de cálculos. Los resultados demostraron cambios en los valores de ácido úrico, lactato deshidrogenasa sérico, pH, densidad urinaria al comparar los tres grupos dosis. Se concluye que el extracto etanólico de propóleo tiene efecto diurético y antilitiasico. (20).

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Zampini, I., 2005 realizó diferentes investigaciones sobre la especie de *Baccharis* (*Incarum* y *Boliviensis*) que se desarrollan a una altura de 3800 (MSNM) metros sobre el nivel del mar. En las alturas de nuestro país, los pobladores andinos, emplean las bondades de este producto como protector contra las dolencias hepáticas y gástricas. Al realizar las pruebas preliminares de identificación de metabolitos se encontraron con compuestos con propiedades antioxidantes y antibacterianos. El estudio realizado se justificó en desarrollar una fórmula para conservar los alimentos y cosméticos, evitando se degradación. Además, se empleó como antibiótico de amplio espectro en ensayos sobre cepas patógenas y enfermedades degenerativas (cáncer, enfermedades autoinmunes, cardiovasculares y neurodegenerativas) y en los procesos de envejecimiento” (2).

Ramírez J. Mauricio O. (2006) realizó un estudio para comprobar el efecto diurético y la concentración de electrolitos eliminados por la *Salvia scutellarioides*, empleando ratas albinas en la parte experimental. Para la parte experimental se siguió el modelo utilizando 24 ratas machos de la especie Sprague-Dawley. Se prepararon cuatro grupos que contenían las ratas seleccionadas al azar. La división de los grupos fue de la siguiente manera: Al primer grupo se le administro suero fisiológico, al segundo grupo se le administro una solución de furosemida (10 mg/kg), a los grupos 3 y 4 se les administraron el extracto de *S. scutellarioides* (1 g/kg y 2 g/kg). Para lograr una homogeneidad en el tratamiento, a cada grupo se le administro 25 ml/kg de peso del animal. Para cuantificar el volumen de orina las ratas fueron acondicionadas en jaula metabólicas para la recolección de orina. La evaluación demostró que *S. scutellarioides* en dosis de 1 y 2 g/kg provocó un incremento en la diuresis. Por este trabajo, se puede concluir que *S. scutellarioides* reporta una buena actividad diurética y puede ser una alternativa en pacientes que sufren de hipertensión arterial (3).

Noriega A. (2015) realizó un estudio para determinar la capacidad diurética de las hojas de *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus*

aurantifolia. Para determinar la actividad diurética, fue necesario la preparación de un extracto acuoso de concentración al 20%. El modelo experimental estuvo constituido por la técnica empleada por Naik y col, modificado por Saravia, A. el número de ratas albinas machos empleadas fue de 36, estas ratas pesaron alrededor de 250-300g. el estudio contempló en empleo de 4 grupos experimentales y 3 ratas por grupo como medicamento de referencia se empleó una solución de furosemida 25mg/Kg, a otro grupo se le administró agua destilada, y las dosis de trabajo estuvieron comprendidas entre 750 y 1000 mg/Kg de peso. Las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas y se tomó el volumen de orina a intervalos de 2 horas. “Se realizó la prueba de Dunnett para comparar el fármaco de referencia, y el extracto acuoso de las plantas a evaluar en las dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso, contra el control negativo a un nivel igual a 0.05”. a la luz de los resultados experimentales se pudo obtener que las muestras estudiadas no mostraron un aumento significativo en los niveles de orina a ninguna dosis, por lo que puede afirmarse que no poseen una buena actividad diurética (4).

Puig M. (2015) realizó un estudio sobre la actividad diurética de mezcla hidroalcohólica de la *Matricaria chamomilla* y *Urtica urens*, empleando ratas albinas en la parte experimental. Para desarrollar la actividad farmacológica, fue necesario formar grupos de estudio siendo conveniente emplear 5 grupos de 4 ratas cada grupo bajo las mismas condiciones de sexo, edad y peso. Al primer grupo se le administró agua destilada. Al segundo grupo se le administró furosemida al tercero cuarto y quinto grupo se administraron mezclas de las plantas de estudio a la siguiente concentración (20-80), (50-50), (80-20), respectivamente. Asimismo, se realizó un segundo ensayo donde se comparó la eficacia de los extractos por separado. Los resultados demostraron que las mezclas de las plantas de estudio incrementaron el volumen urinario durante toda la fase experimental, concluyéndose que la sinergia de ambos compuestos provoca un aumento en el volumen urinario de las ratas (5)

Martínez S. (2012) realizó un estudio para determinar la capacidad diurética de (*Morinda citrifolia* L.). para este estudio fue necesario contar con 40 ratas todos de un peso promedio de 230-260 sexo macho y especie Wistar. La presente

investigación contemplo la formación de 5 grupos de trabajo, el grupo número 1 se le administro suero fisiológico, al grupo numero dos se le administro una solución de furosemida de 20 mg/kg al resto de los grupos se le administro la muestra de estudio 100, 200 y 400 mg/kg de peso de animal. Luego de la administración de los productos, fue necesario acondicionar a las ratas en jaulas metabólicas para cuantificar el volumen de orina y determinar los metabolitos eliminados en el día. El desarrollo experimental demostró que las concentraciones de 200 y 400 mg/kg provocaron un incremento de la orina hasta de 35ml /24h. este dato es muy significativo puesto que, con el fármaco de referencia, los valores de micción recogidos estuvieron cerca (38,33 mL /24 h). del experimento se puede concluir que (*Morinda citrifolia* L.) presenta actividad diurética a las dosis de 200 y 400 mg/kg al ser administrado por vía oral (6).

Duaud A. (2007) realizo una evaluación a fin de determinar el efecto diurético y la eliminación de electrolitos del extracto acuoso de *Polylepisaustralis Bitter* (queñoa). Para este estudio se empleó ratas Wistar, los extractos fueron administrados por vía oral y las dosis de 200 y 400 mg/kg. Para la parte experimental, se formaron grupos de estudio, al primer grupo se le administro el medicamento de referencia que fue la furosemida (20 mg/kg), al otro grupo se le administro suero fisiológico y a los dos grupos restantes los extractos a las concentraciones mencionadas. Se acondiciono para el ensayo, jaulas metabólicas y se cuantifico el volumen de orina y la cantidad de electrolitos a las 6 horas de tratamiento. Se interpretó que la queñoa provoca una depleción en los niveles de cationes de potasio y sodio y un incremento en los niveles de excreción de agua mecanismo muy similar al demostrado por la hidroclorotiazida (7).

Felipe G. (2011) realizo un estudio para determinar la actividad diurética de *Caesalpinia bahamensis lam* (brasilete) al ser preparada en extractos secos y acuosos. Para el estudio fue necesario el empleo de 30 ratas hembras de peso promedio entre 170-210g de la raza Wistar. La metodología sugirió la formación de 6 grupos. grupos fueron divididos en grupo control, blanco y grupos de estudio para la muestra problema. Se administraron los productos y las ratas

fueron colocados en jaulas metabólicas para su estudio y recolección de orina. Para determinar la significancia de la prueba, se realizó un test de ANOVA. Los resultados demostraron que compuestos utilizados como control ya en la primera hora de tratamiento provocaron una diuresis considerable mientras que las muestras de estudio tuvieron que esperar dos horas para presentar el efecto diurético. Cuando se consideró el volumen eliminado, no se halló diferencia entre la cantidad de orina expulsada ($p < 0.05$) lo que demostró que extractos de *Caesalpinia bahamensis* posee efecto diurético (8)

Alvis a. (2013) realizó un estudio para evaluar la actividad diurética del extracto (acuoso y etanólico) de *Ceratopteris pteridoides* (Hook). Para obtener el extracto etanólico, fue necesario macerar la planta y para el extracto acuoso se realizó una decocción. Para evaluar la actividad diurética, se adquirió ratas Wistar, se administraron los medicamentos de referencia que fue la furosemida, un control negativo que fue agua destilada y muestras de estudio a una concentración de 1.000 mg/kg y 500 mg/kg. Se acondicionaron en jaulas metabólicas para cuantificar la orina. Para la parte experimental fue necesario la preparación de dos tipos de preparaciones, un extracto etanólico y un extracto acuoso, al ser sometidos a la parte experimental, se evidenció que ambos preparados a altas concentraciones, poseen efecto diurético aumentando la eliminación de líquidos y aumentando la eliminación de cationes de sodio y a baja concentración solo provoca la eliminación de líquidos. Finalmente, el investigador propone la realización de estudios más específicos para determinar la presencia del metabolito responsable de la actividad diurética (9)

Cañas J. (2011) realizó una investigación con la finalidad de determinar la actividad antinefrolitiasico y diurético de la *Manicaria Saccifera*, para ello fue necesario usar un modelo experimental que empleó ratas Wistar de sexo hembra con un peso de 240-260g y 2 meses de edad. Se acondicionaron también jaulas metabólicas para la recolección de la orina. Se acondicionaron los animales en el bioterio especializado de la universidad del Valles, respetando las condiciones establecidas por los investigadores para acondicionamiento, temperatura 25°C y luz x 12 horas, la alimentación fue básicamente fórmula alimenticia purina. Los estudios demostraron que el extracto etanólico de

Manicaria saccifera presenta actividad diurética cuando se administra a 10 mL/kg, este efecto es superior al que presenta el control negativo, sin embargo, cuando se compara con la furosemida que es el control positivo, la eficacia es inferior al demostrado por este, al cabo de tres horas de evaluación del tratamiento, el extracto etanólico de *Manicaria saccifera* presenta una diuresis similar al del medicamento control positivo. La eliminación de los electrolitos involucrados en el estudio aumento a medida que se incrementaba la diuresis, se pudo cuantificar ion calcio, ion potasio, ion sodio respectivamente. Se concluye que extracto etanólico de *Manicaria saccifera* presenta actividad diurética y corrobora el potencial terapéutico transmitido de generación en generación (10)

Morales V. (2015) realizo una evaluación para determinar la actividad antiurolítico del fruto fresco de *Parmentiera aculeata* en rata Wistar. Para el estudio se realizó el modelo de Murino, el modelo estimó la formación de cálculos vesicales. Se aplicaron tratamientos con furosemida 0.25 mg kg por día y se aplicaron los extractos a 70 mg kg. Al final del desarrollo experimental, se evidencio que los extractos provocan un volumen de diuresis de 37, 34 y 35 mL, respectivamente lo cual es significativo. Además, se extrajeron los cálculos de los animales de experimentación y al ser evaluado, demostraron ser cristales de estruvita. Después de realizar el análisis, se pudo evidenciar que los cálculos disminuyeron de tamaño y en algunos casos se fragmentaron, estas actividades tienen mucho valor por que convierte a la planta en un poderoso antilitiásico. Los resultados obtenidos confirman el uso de *P. aculeata* en la medicina tradicional para tratar la urolitiasis (11).

Bernal M. (2006) realizo la evaluación del efecto diurético de *Boldoa purpurascens* (Nitro Blanco). La identificación de los compuestos flavonoides del grupo benzodioxalano demostraron ser los responsables de esta actividad, para esta actividad se tomaron ratas *Sprague Dawley* machos de 250g de peso aproximadamente. Utilizando la metodología de Drug Discover Pharmacological Assay se diseñó la fase experimental, la cual estimo la preparación de dosis de 100, 50, 25 12, 6, 3 mg/Kg de peso. Se cuantificó el volumen de diuresis y la excreción de electrolitos primarios. Los resultados de la prueba experimental demostraron que el extracto de *Boldoa purpurascens*

(Nitro Blanco) a la dosis (50mg/kg) provoca mayor volemia en comparación con el fármaco control positivo que fue furosemida, además no se evidencio cambios en la eliminación de cationes. Se concluye indicando que el producto estudiado puede ser coadyuvante en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares debido a la acumulación de líquidos y en los procesos edematosos (12)

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Baccharis trimera (*Carqueja*)

Se encuentra en varios tipos de suelos fértiles y húmedos, principalmente en praderas bosques y bordes de caminos.

Florecen a principios de verano continuando según las condiciones climáticas. No es común verlas cultivadas en jardines, sin embargo, tiene buena presencia por su porte, color y por la forma y matas compactas.

Se multiplica por semillas en primavera y verano.

El baccharis pertenece a la familia de las asteraceae y es de origen del sur de américa. Es conocida con varios nombres en los diferentes países de américa del sur:

Uruguay	:	Carqueja
Paraguay	:	yaguareté
Argentina	:	carquejilla
Brasil	:	bacarida
Perú	:	carcaja
Ecuador	:	tojo
Colombia	:	querciulo o carqueja (21)



Figura N1: *Baccharis trimera* (Carqueja)

FUENTE: Roig y Mesa JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas. Edición científica –técnica. 1988.

2.2.1.2 Taxonomía:

Nombre Científico:	<i>Baccharis trimera</i>
Reino:	Plantae
División:	Spermatophyta / Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Tribu:	Astereae
Género:	<i>Baccharis</i>
Especie:	<i>Baccharis trimera</i>
Hábitat:	Especie del sur de Brasil, Bolivia, Paraguay, Uruguay y norte de la Argentina. (21)

2.2.1.3 Descripción botánica

Es una planta de tipo perenne, presenta forma erguida, los tallos son de tipo leñoso. Es una planta que puede alcanzar hasta los 90 cm de alto. Se desarrolla en suelos fértiles y húmedos, crece al borde de los caminos por lo

que se llama hierba de los caminantes, también se encuentra en los bosques y praderas.

Las hojas son de tipo brácteas, presentan tres leños, los bordes son extensos y lisos.

Las flores se desarrollan en verano y según el clima pueden permanecer por mucho tiempo. En algunos lugares se le puede encontrar como planta ornamental, aunque no es muy común tenerlas en jardines i macetas.

Su multiplicación es por semillas y ocurre en el mes de primavera y también verano. (22)

2.2.1.4 Fisiología de la planta

La *baccharis* es una planta muy vistosa, presenta tallos largos los cuales poseen la capacidad de desarrollar la fotosíntesis, sus hojas son pequeñas pero llamativas de un tamaño de 5cm de color verdosa, las flores forman capullos rodeados por espigas, la inflorescencia es acampanada que desprende un olor agradable que permite la atracción de abejas para realizar la polinización

2.2.1.5 Composición Química

La carqueja es una fuente rica de flavonoides. Ciertos flavonoides, como la silimarina en el cardo mariano, han demostrado propiedades protectoras del hígado y de utilizan para muchas afecciones hepáticas en los sistemas de la medicina herbaria. La carqueja es más bien como la versión sudamericana de la leche de cardo. Contiene hasta un 20% de flavonoides, como la quercetina, luteolina, nepetin, apigenina, y hispudilin. Los flavonoides se consideran los componentes principales de carqueja activa. Varios químicos de las plantas denominados diterpenoides clerodano, han sido identificados en la carqueja y, en 1994 unos científicos demostraron que esta sustancia química tiene efectos máximos contra los gusanos. Esto podría explicar larga historia de uso de carqueja como un agente para expulsar lombrices intestinales. (22)

Esta planta se caracteriza por presentar muchos aceites esenciales en su composición, alguno de ellos con estructura química bastante compleja. Otras cadenas lineales simples. Entre los aceites más destacados tenemos: los terpinenos, los pinenos, los canfenenos, los limonenos. (22)

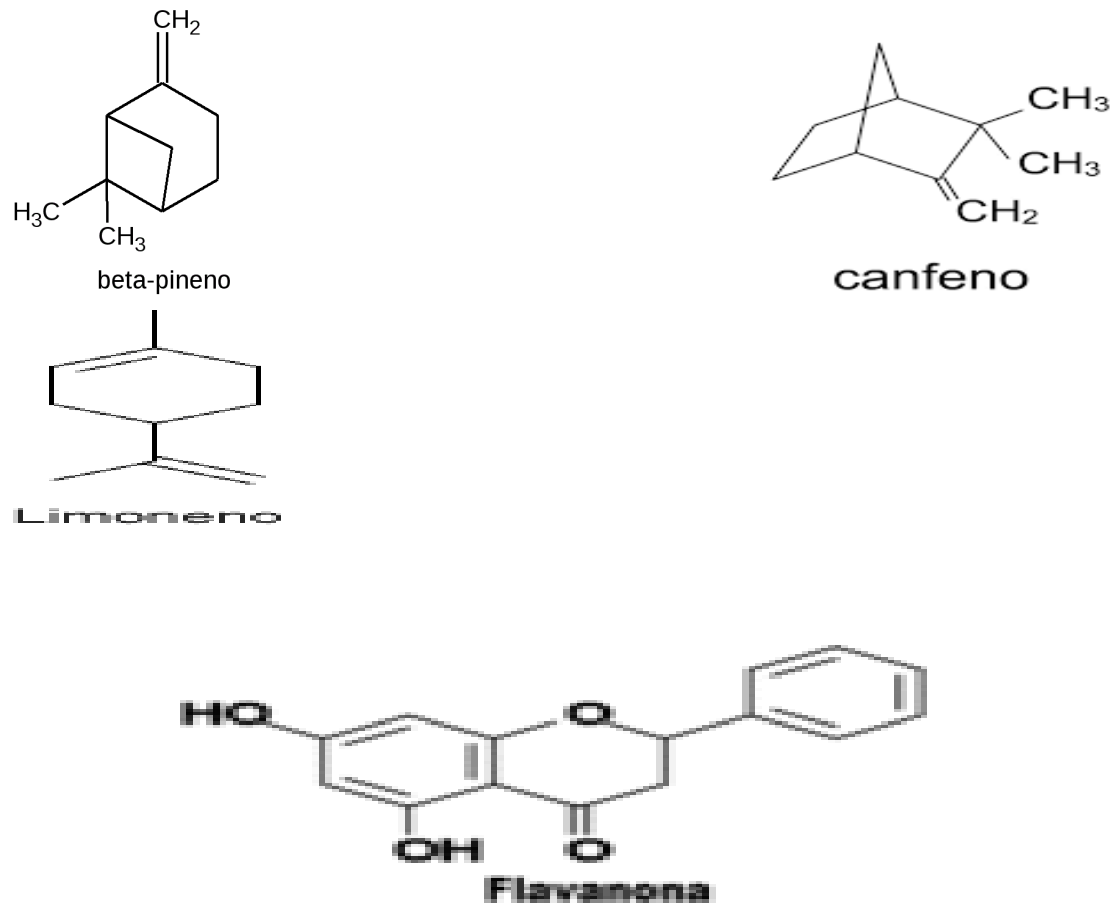


Figura N2: Composición química de *Baccharis Trimera* (Carqueja)
 Fuente: Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.1.6. Usos populares significativos:

Tiene propiedades curativas muy valiosas en todas las enfermedades del hígado y puede decirse que es una verdadera panacea e estas dolencias, son numerosas las curas obtenidas con el uso continuo del conocimiento de carqueja en la proporción de 20 gramos por litro de agua, a beberse diariamente.

Puede usarse en la litiasis biliar, ictericia, insuficiencia de la secreción biliar, congestión del hígado, cirrosis hepática, cólicos biliares.

También es estomacal por su acción tónico estimulante de la función gástrica
 Con el uso continuado desaparecen las manchas de la cara que producen por enfermedades del hígado.

Útil en las enfermedades del riñón por sus propiedades diuréticas.

Gran depurativo en el caso de forunculosis rebeldes, urticarias, abscesos. Buen resultado en la impotencia del hombre y esterilidad de la mujer, los indios pampas, ranquelinos y araucanos conservaban su vigor hasta edades avanzadas. Como es muy amarga se puede disimular el gusto con piperina o menta el poleo. (22)

2.2.1.7 Características para el Desarrollo de la planta

Clima Apropiado para el Desarrollo de la Planta

Las temperaturas de crecimiento optimas son máximas de 32 °C las medias de entre 18 y 24 °C y la mínima de 10 °C

Para germinar, las semillas necesitan una temperatura mínima del suelo de 15 °C. “No es común verla cultivada en jardines, sin embargo, tiene buena presencia por su porte, color y por formar matas compactas”. Se multiplica por semillas en primavera y verano.

Suelo apropiado

“La fertilización será una consecuencia de las necesidades del suelo y el cultivo, las que serán determinadas por medio de la observación y el análisis, pero se debe tener en cuenta que, al estado silvestre, suele encontrar a la “carqueja” en terrenos fértiles, con buen contenido de nutrientes, estructura principalmente en praderas, bosques y borde de caminos”.

Cultivo

Esta especie es aprovechada casi, en un ciento por ciento a partir de ejemplares que crecen silvestres. Se la puede reproducir a partir de semillas, pero si se han seleccionado plantas por algunas características particulares convendrá hacerlo por esquejes.

Las semillas pueden ser sembradas en vivero en otoño y llevadas al sitio de plantación a comienzos de la primavera. También pueden sembrarse en primavera y llevar las plántulas al campo cuando haya alcanzado una altura de unos 8 y 10cm.

Preparación de terreno

Para la multiplicación por estacas, se preferirían las partes basales de las ramas, aquellas que sean más leñosas, retirándolas de plantas seleccionadas por sus características de rendimiento en componentes activos y agronómicos durante la primavera. Después se le colocara en vivero hasta que hayan emitido raíces y estén condiciones de ser trasladados al campo.

Siembra

Distancia de plantación no ha sido suficientemente ensayada, aunque 0,70m entre líneas y 0,25 a 0,30m entre plantas puede ser considerada una distancia apropiada, pero ello depende, entre variables, de la fertilidad del suelo.

Riegos

El riego y el control de malezas y plagas son las labores más importantes a realizar durante estas etapas.

Fertilizaciones

La fertilización será una consecuencia de las necesidades del suelo y el cultivo, las que serán determinadas por medio de la observación y el análisis, pero se debe tener en cuenta que, al estado silvestre, se suele encontrar a la “carqueja” en terrenos fértiles, con buen contenido de nutrientes y estructura.

Variedades

Existen otras variedades de carqueja como la carqueja amarga (*Baccharias tripera*) que tiene los mismos usos y es considerada tónica y antifebril. La carqueja dulce (*Baccharias gandicbandiana*) que tiene las mismas propiedades, pero más atenuadas.

Cosecha

La cosecha se realizará con hoz o guadañadora cortando las ramas a una altura tal, que evite las ramas inferiores leñosas y, por lo común, con tierra. Posteriormente se las deseca, ya sea por medio de secado natural o mecánico, se las acondicionara.

Conservación En lugares frescos en el mejor de los casos en bio-huertos con temperaturas y humedad apropiada esto facilita su cuidado y desarrollo adecuado de la planta. (23)

2.2.2 Diuréticos:

Bajo el nombre de diuréticos se conocen a sustancias químicas que administradas a una dosis establecida, provocan un incremento en la eliminación del volumen de orina lo cual trae como consecuencia la eliminación de muchos cationes. Un diurético es un fármaco empleado en enfermedades por acumulación de líquidos como es el caso de la hipertensión arterial, ascitis, o edemas. El uso de los diuréticos está dirigido también a enfermedades metabólicas como es la diabetes y la obesidad. (24)

2.2.2.1 Tipos de diuréticos empleados en medicina.

2.2.2.1.1 Diuréticos osmóticos

Bajo el nombre de diuréticos osmóticos, a aquellas sustancias que impiden la reabsorción de agua y electrolitos, evitando que se filtren y se acumulen en los tejidos. Estas sustancias corrigen los desequilibrios osmóticos. El prototipo de estos medicamentos es el manitol el cual se utiliza en caso de edemas o ascitis ya que actúa impidiendo la reabsorción de sodio y potasio por lo cual la acumulación de líquido desciende.

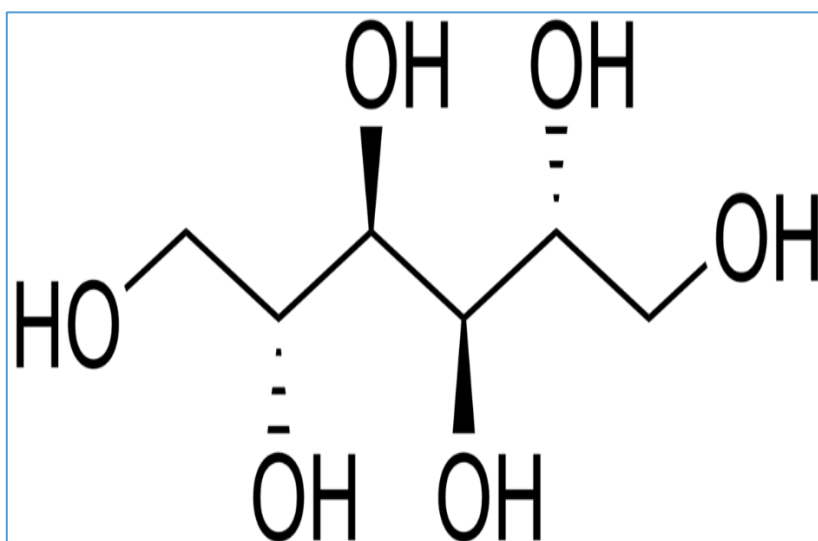


FIGURA N3 ESTRUCTURA QUIMICA DEL MANITOL

Fuente: Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.2 Diuréticos inhibidores de los túbulos renales

Estos diuréticos cumplen diferentes modelos de acción los cuales están destinados a evitar la reabsorción de ciertos cationes (24)

2.2.2.1.3 Inhibidores de la anhidrasa carbónica

El prototipo es la acetazolamida, este fármaco actúa disminuyendo la reabsorción del catión natriumreticos en el túbulo proximal. Al bloquear al co-transportador sodio, la acetazolamida favorece la acción de la anhidrasa carbónica.

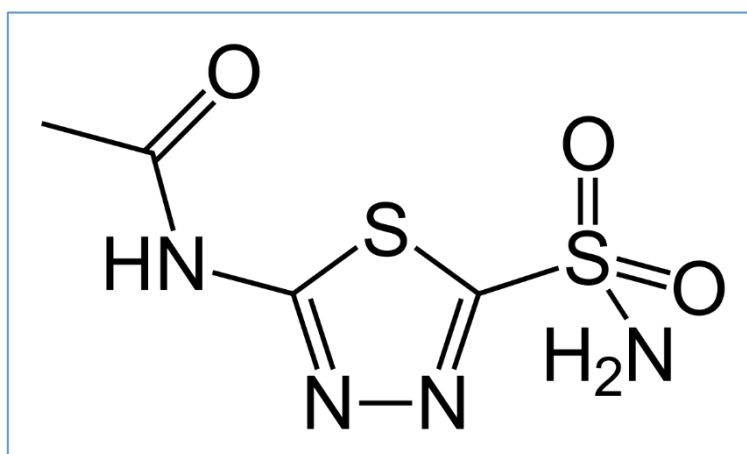


FIGURA N4 ESTRUCTURA QUIMICA DE LA ACETAZOLAMIDA
Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.4 Benzotiadiazinas y diuréticos relacionados

En este grupo se encuentran los diuréticos tiazídicos que aumentan la excreción de sodio a través de la inhibición de la reabsorción de sodio en el segmento cortical (grosso) de la rama ascendente del asa de Henle y en el segmento inicial de los túbulos distales. Estas drogas también aumentan la excreción urinaria de cloro, potasio y, en menor medida bicarbonato. Entre estos se encuentran: Bendroflumetiazida, Benztiiazida, Ciclotiazida, Clortalidona, Hidroclorotiazida, Hidroflumetazida, (24)

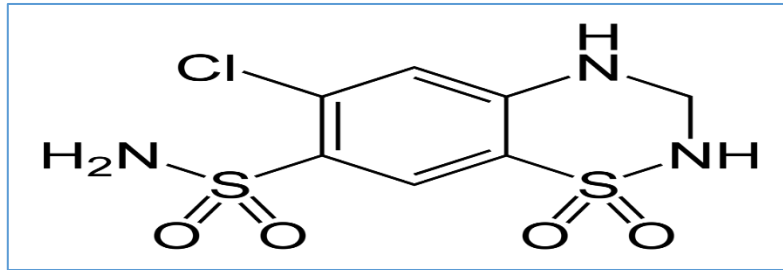


FIGURA N 5 ESTRUCTURA QUIMICA DE LA HIDROCLOROTIAZIDA
Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.5 Diuréticos ahorradores de potasio

El prototipo de este grupo es la espironolactona, estos fármacos tienen un mecanismo similar al anterior, pero con la diferencia que expulsa a los iones sodio y deja potasio. Este mecanismo selectivo provoca que la pérdida de líquido no ponga en riesgo funciones vitales en el organismo.

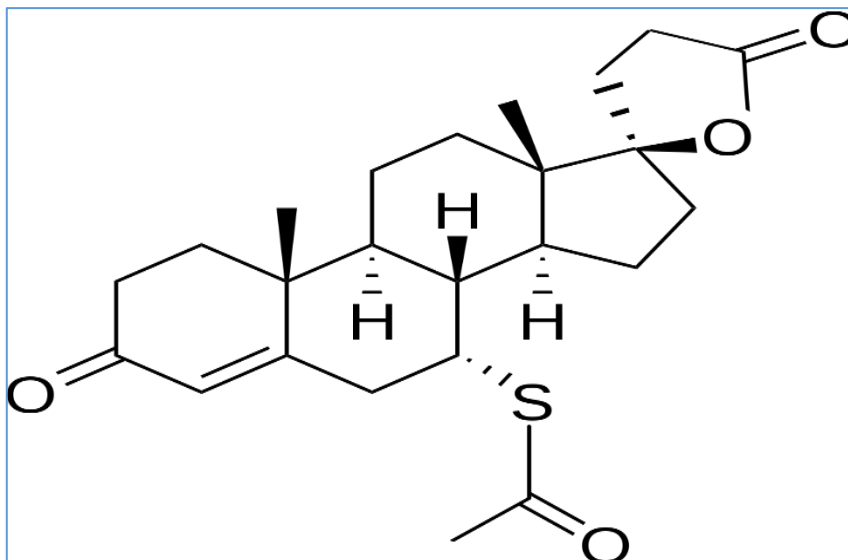


FIGURA N6 ESTRUCTURA QUIMICA DE LA ESPIRONOLACTONA
Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.6 Diuréticos de asa (alta eficiencia)

El prototipo de este grupo es la furosemida, un fármaco que se usa solo en crisis graves de retención de líquidos o cuando la vida de la persona se encuentra en peligro, se le considera diuréticos e alto techo por actuar en la rama ascendente (gruesa) del asa de Henle, son los diuréticos utilizados en emergencias, la eliminación de líquido es abundante, aunque su tiempo de acción es corto, ya que el efecto desaparece a las pocas horas. (24)

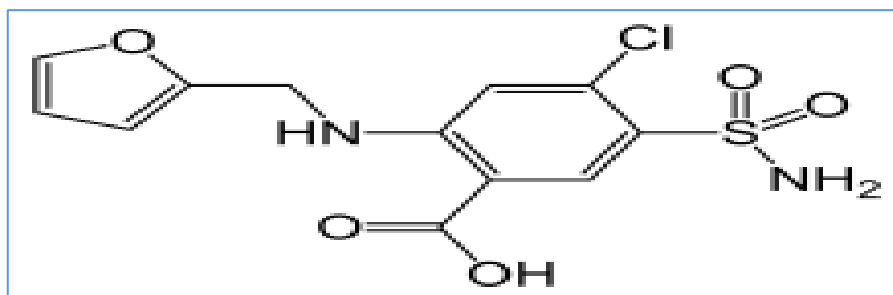


FIGURA N7 ESTRUCTURA QUIMICA DE LA FUROSEMIDA
Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.7 Diuréticos que Incrementan el Flujo Sanguíneo Renal

TEOFILINA

Descripción

La teofilina es una xantina ampliamente utilizada por vía oral e intravenosa en el tratamiento del asma y del bronco espasmo. La teofilina es una sustancia natural que existe en el té y que está químicamente emparentada con las cafeínas y la teobromina.

Mecanismo de acción: La teofilina exhibe también propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias. La teofilina relaja el músculo liso bronquial, así como los vasos pulmonares. En los pacientes asmáticos, la teofilina reduce las respuestas de las vías aéreas a la histamina, metacolina, adenosina y alérgenos. La teofilina es un relajante del músculo liso, pero es un estimulante de las células musculares esqueléticas y cardíacas. La teofilina es un inotrópico positivo, aumenta el gasto cardíaco y estimula la diuresis.

Otros efectos extrapulmonares de la teofilina son los estimulantes sobre el sistema nervioso central, el aumento de la contractilidad del diafragma y la inhibición de las prostaglandinas. Además, el hecho de que la teofilina sea capaz de reducir la apnea del sueño en pacientes con insuficiencia cardiaca es una prueba de que debe existir algún mecanismo de origen central. (25)

La teofilina se excreta a nivel renal como metabolito activo en un 12% lo cual es una concentración bastante baja y esta se debe a la fijación que tiene por el

tejido, sin embargo, los neonatos tienen una menor depuración de este fármaco pudiendo llegar al 50%

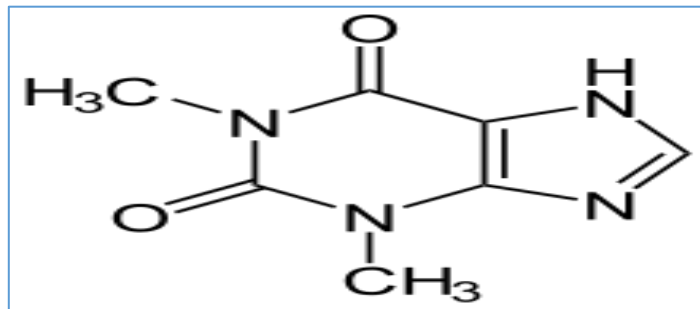


FIGURA N8 ESTRUCTURA DE LA TEOFILINA

Fuente: Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.8 CAFEÍNA

DESCRIPCION

La cafeína es una xantina de origen natural, presente en el café, utilizada como estimulante del sistema nervioso central o como estimulante respiratorio. También se utiliza como diurético suave. Otros derivados xantínicos incluyen la teofilina, que se utiliza como broncodilatadora y la teobromina, compuesto que se encuentran en el cacao y el chocolate. La cafeína se encuentra en muchas bebidas y refrescos. A menudo la cafeína se combina con analgésicos o derivados del alcaloide ergotamina para el tratamiento de la migraña y otros tipos de cefalea. La cafeína también se comercializa en productos utilizados para tratar el mareo u obesidad.

Mecanismo de acción: la cafeína es un estimulante directo y moderado del sistema nervioso central y también estimula el corazón y el sistema cardiovascular. Le teofilina, estructuralmente parecida, comparte algunas de sus propiedades y se utiliza ampliamente en el tratamiento de enfermedades pulmonares. Tanto la cafeína como la que teofilina son estimulantes del sistema nervioso central siendo la segunda mucho más potente que la cafeína, particularmente a altas concentraciones.

La cafeína y sus metabolitos se eliminan en la orina. La semi vida plasmática es de 3 a 7 horas en los adultos. En los neonatos la semi vida plasmáticas

puede variar entre 65 y 100 horas y la fracción de cafeína eliminada sin cambiar en la orina es del 86% en los seis primeros días. Los niños pequeños tienen una semi-vida plasmática de cafeína de tres a cuatro días. A los nueve meses, la semi-vida plasmática y la eliminación urinaria es la misma que la de los adultos. El metabolismo de la cafeína por el citocromo P-450 es inhibida en los niños lactantes mientras que la alimentación artificial no parece afectar el metabolismo.

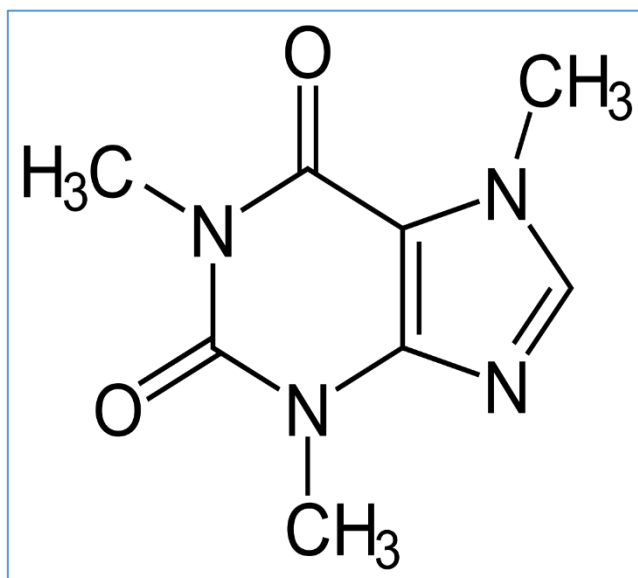


FIGURA N9 ESTRUCTURA QUIMICA DE LA CAFEINA
Fuente: Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

2.2.2.1.9 Plantas medicinales

Muchas plantas han evolucionado para producir metabolitos activos para defensa, para dañar o para producir efectos benéficos. Algunas plantas presentan estructuras complejas que aisladas correctamente y probadas en animales y seres humanos pueden tratar, aliviar. Prevenir y curar enfermedades

La medicina natural y posteriormente las farmacopeas, han catalogado plantas por sus diferentes propiedades terapéuticas, es así que catálogos florísticos terapéuticos mencionan a plantas con propiedades: diuréticas, desinflamantes, antioxidantes, analgésicas, narcóticas, digestivas, respiratorias, depurativas etc. (26)

Plantas medicinales diuréticas

Poseen la propiedad de eliminar líquidos dependiendo de la concentración esta eliminación puede ser muy fuerte y en otros casos leve, las plantas no eliminan cationes a menos que la dosis sea muy elevada, la reacción demostrada por las plantas es suave en comparación con los medicamentos (26)

Se sabe que muchos de los principios activos de naturaleza química de una sola planta son los que ejercen la actividad diurética, pero no se sabe cuantitativamente la acción de cada uno de estos a la totalidad de la acción diurética de la droga. Los principales principios activos que pueden intervenir en la acción diurética son aceites esenciales, flavonoides, saponósidos y sales de potasio. El mecanismo de acción puede ser causado por flavonoides, aceites esenciales, saponósidos, etc., los cuales posiblemente actúen en el glomérulo con más frecuencia que en el túbulo, provocando acuareisis que es un incremento en la formación de orina consecuencia de una circulación renal y tasa de filtración glomerular aumentada. Sin embargo, las sales de potasio podrían producir un efecto diurético gracias a un proceso osmótico. (26)

Para lograr el efecto deseado, las plantas deben ser dosificadas bajo estrictos controles, como por ejemplo masa y volumen. Si la dosis es insuficiente, los efectos deseados se manifiestan con poca intensidad o son muy lentos en aparecer, si la dosis es muy elevada, los efectos se exageran y pueden aparecer reacciones adversas e incluso episodios de intoxicación. La idea con las plantas medicinales es encontrar la dosis correcta, esta se logra a través de estudios experimentales en animales de experimentación. Las plantas diuréticas se pueden preparar en extractos, macerado o infusión, la forma correcta y la cantidad debe ser estipulada correctamente. Si se quiere lograr un efecto diurético, las plantas deben ser preparadas al instante y administradas 3 veces al día por 5 semanas. (27)

2.2.3 Extractos vegetales:

Definición:

Los extractos son preparaciones de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas) o semisólida (extractos blandos o densos), o sólida (extractos secos),

obtenidos a partir de drogas vegetales o tejidos animales en estado generalmente seco.

Existen diferentes tipos de extractos. Los extractos ajustados se encuentran dentro de una tolerancia aceptable sobre el contenido de constituyentes con conocida actividad terapéutica.

Los extractos estandarizados se logran por ajuste del extracto con sustancias inertes o mezclando lotes de extractos.

Los extractos cuantificados son ajustados a un definido rango de constituyentes. Los ajustes se hacen mezclando lotes del extracto o añadiendo material específico.

Otros extractos son esencialmente definidos por su proceso de producción (estado de la droga vegetal o tejido animal a ser extraído, por el solvente, por las condiciones de extracción) y sus especificaciones (28)

Producción

Los extractos son preparados por métodos apropiados usando etanol u otro solvente adecuado. Pueden ser mezclados diferentes lotes de droga vegetal o tejido animal previo a la extracción. La droga vegetal o tejido animal a ser extraído debe someterse a un tratamiento preliminar, por ejemplo, inactivación de enzimas, molienda o trituración. Además, las materias indeseables deben ser eliminadas antes de la extracción.

Las drogas vegetales, tejido animal y solvente orgánico usado para la preparación de extractos cumplen con cualquiera de las farmacopeas. Para los extractos densos y secos donde el solvente orgánico es eliminado por evaporación, puede usarse solvente recuperado o reciclado, siempre que el procedimiento de recuperación sea controlado y monitoreado para que el solvente cumpla los patrones apropiados antes del reusó o mezclado con otros materiales aceptados.

El agua usada para la preparación de extractos debe ser de calidad adecuada. Excepto para el ensayo de endotoxinas bacterianas, el agua cumple con la

sección de agua purificada de la monografía. El agua potable puede ser usada si cumple con la especificación definida para la producción de un determinado extracto.

Donde sea aplicable, la concentración para lograr la consistencia se logra utilizando métodos adecuados, como son la presión reducida y a una temperatura a la cual el deterioro de los constituyentes es reducido al mínimo.

Los aceites esenciales que hayan sido separados durante el proceso pueden ser repuestos al extracto en una etapa apropiada en el proceso de manufactura. Los excipientes utilizados se pueden adicionar en diferentes etapas convenientes del proceso de manufactura, por ejemplo, mejorar la calidad tecnológica tal como la homogeneidad o consistencia. Los estabilizadores y preservativos antimicrobianos también pueden ser adicionados.

La extracción con un solvente dado conduce a las proporciones típicas de un constituyente caracterizado en la materia extraíble. No obstante, durante el proceso de estandarización y cuantificación, se pueden aplicar procedimientos de purificación para incrementar estas proporciones con respecto al valor esperado, tales extractos se refieren como “refinados” (28)

2.2.4 Extracto Fluido

Definición

Los extractos fluidos son preparaciones líquidas tal que 1 parte por masa o volumen es equivalente a 1 parte por masa o droga vegetal o tejido animal seco.

Estas preparaciones son ajustadas, si fuera necesario, de manera tal que satisfagan los requerimientos para el contenido de solvente y donde sea aplicable, de constituyentes.

Producción

Los extractos fluidos son preparados usando etanol de concentración adecuada o agua para extraer la droga vegetal o tejido animal, o por dilución de

un extracto denso o seco de la droga vegetal o animal (el cual haya sido producido usando el mismo solvente con el mismo porcentaje o grado usado durante el proceso de extracción directa o preparación del extracto líquido), con alcohol de concentración adecuada o agua.

Los extractos fluidos pueden ser filtrados, si fuera necesario. Puede estar presente un ligero sedimento el cual es aceptable en dependencia de que la composición del extracto fluido no cambie significativamente.

Ensayos

- Densidad relativa: según valor descrito en la monografía.
- Contenido de alcohol: Para extractos líquidos alcohólicos, proceder como determinación del contenido de alcohol. El contenido alcohólico debe cumplir con lo que se prescribe de Metanol y 2 – propanol.
- Residuo seco: donde sea aplicable, el extracto fluido cumple con los límites prescrito en la monografía, corregido si es necesario, tomando en cuenta cualquier excipiente usado.

Almacenamiento

Protegido de la luz.

Etiquetado

La etiquetada debe contener además de los requerimientos anteriormente listados lo siguiente: donde sea aplicable, el contenido de alcohol en porcentaje V/V del extracto final.

Extracto Seco

Definición

Los extractos blandos son preparaciones semi sólidas obtenidas por evaporación total o parcial de los solventes usados para la extracción.

Ensayos

Residuo seco: El extracto blando cumple con los límites que prescribe la monografía.

Solventes

En los casos que procedan, la monografía prescribe un ensayo límite para el solvente usado en la extracción.

Almacenamiento

Protegido de la luz. (29)

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

Presenta actividad diurética el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis Trimeria* (Carqueja)

2.3.2 Hipótesis específicas

El extracto etanólico de las hojas de *Baccharis Trimeria* (Carqueja) tiene metabolitos secundarios que se pueden definir mediante su perfil fitoquímico.

La mayor concentración del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis Trimeria* (Carqueja) presenta actividad diurética al ser experimentada en ratas albinas.

El extracto etanólico de las hojas *Baccharis Trimeria* (Carqueja) presenta mayor actividad que la especialidad farmacéutica Lasix.

2.4 Variables

2.4.1 Variable independiente

Extracto etanólico de las hojas de *Baccharis Trimeria* (Carqueja)

2.4.2 Variable dependiente

Actividad diurética

2.4.3 Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Extracto etanólico	Producto obtenido de extraer de partes de vegetales con ayuda de	Producto obtenido de la maceración de	Prueba de solubilidad	Muy Soluble Soluble Poco soluble

	solventes los metabolitos presentes en la planta con los que se podrán preparara productos farmacéuticos, los extractos pueden ser secos, fluidos o blandos.	órganos de las plantas en soluciones hidroalcoholicas	Marcha fitoquímica	Insoluble Taninos Flavonides Alcaloides Fenoles Cumarinas Saponinas glicosidos
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES
Actividad diurética	Efecto producido por sustancias que tienen propiedades para incrementar el volumen de líquido eliminado y que se pueden utilizar en un padecimiento clínico	Capacidad de tiene una sustancias para aumentar el volumen de diuresis	Diuresis Volumen de orina excretado	Alto Medio bajo

2.5 Definición de términos básicos

ACTIVIDAD DIURETICA

Es la capacidad de toda sustancia que al ser ingerida provoca una eliminación de agua y electrolitos del organismo, a través de la orina y la expulsión de materia fecal (30).

EXCRECION

La Excreción es un proceso que se da en los organismos capaces de eliminar aquellos productos que ya no necesita para su normal funcionamiento, es una función propia de los seres vivos, como los seres humanos y animales, por ello se dice que es un proceso fisiológico (25)

EXTRACTO

Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos (31)

EXTRACTO HIDROALCOHOLICO

Es el producto de tratar una muestra sólida pulveriza con disolventes los cuales sea muy soluble de alcohol y agua con la cual se forma una pasta que contiene los componentes de la especie vegetal (32)

INDUCCION

Es un procedimiento basado en el conocimiento el cual consiste en analizar a través de la observación, situaciones particulares a fin de originar una conclusión (33)

METABOLITOS

Son compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, que sin embargo aislada contiene propiedades terapéuticas en el ser humano (32).

DIURESIS

Es la secreción de orina tanto en términos cuantitativos como cualitativos. También se define como la cantidad de orina producida en un tiempo determinado (25)

ORINA

Es un líquido acuoso transparente y amarillento, de olor característico, secretado por los riñones y eliminado al exterior por el aparato urinario (25)

PRINCIPIO ACTIVO

Toda materia, cualquiera que sea su origen humano, animal, vegetal, químico o de otro tipo a la que se atribuye una actividad apropiada para constituir un medicamento (32)

ENSAYOS CLÍNICOS

Es una evaluación experimental de un producto, sustancia, medicamento, técnica diagnóstica o terapéutica que, en su aplicación a seres humanos, pretende valorar su eficacia y seguridad (34)

VOLUMEN

La unidad de medida de volumen en el Sistema Internacional de Unidades es el metro cúbico. Para medir la capacidad se utiliza el litro (33)

GRUPO

Un grupo es un conjunto de personas animales o cosas asignadas o auto asignadas, de acuerdo a sus características para cumplir una determinada meta de estudio. (33)

DOSIS

Cantidad de principio activo de un medicamento, expresado en unidades de volumen o peso por unidad de toma en función de la presentación, que se administrará de una vez (34).

CONTROL

Grupo que teóricamente valora la evolución de los pacientes en ausencia de tratamiento activo alguno (33).

ADMINISTRACIÓN

Camino que se elige para hacer llegar un fármaco hasta su punto final de destino (34)

CAPÍTULO III. METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudio

El tipo de investigación del presente estudio fue:

Analítico: Debido a que nos permite analizar los diferentes componentes que presentan los extractos y como estos influyen en el efecto diurético.

Descriptivo: Ya que nos permitió describir los hallazgos obtenidos en la investigación durante el proceso de elaboración de los extractos.

Experimental: Debido a la introducción de animales para la determinación del efecto diurético de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (*Carqueja*)

Transversal: Debido a que el estudio se realizó en un determinado tiempo desde enero a mayo del 2018.

3.2 Diseño a utilizar

El diseño de la investigación fue experimental ya que se trabajó con animales de experimentación y especies botánicas con actividad terapéutica.

Para la recolección de datos, se utilizó una ficha elaborada donde anotaron los datos obtenidos a través de una medición de los valores de diuresis con la probeta en un tiempo determinado

3.3 Población

a) Población de Variable Independiente:

Para poder desarrollar la investigación, fue necesario viajar al departamento de Junín Provincia de Satipo, en donde en estado silvestre crece y se desarrolla la Carqueja.

En ese lugar se recolecto dos plantas de carqueja completas que fueron llevadas al museo de historia natural y se realizó la taxonomía correspondiente, así como 5 kilos de hojas las cuales fueron acondicionadas en bolsas plásticas y transportadas a la ciudad de Lima

b) Población de la Variable Dependiente:

- **Ratas Wistar**

Adquiridas del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS) ubicado en Av. Defensores del Morro 2268 (Ex Huaylas) Chorrillos ratas Wistar macho.

3.4 Muestra

a) Muestra de Variable Independiente:

- Hojas de *Baccharis Trimeria* (Carqueja)

Los 500 gramos de hojas fueron seleccionados, por sus características organolépticas (forma, tamaño, color) y realizado en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, con las cuales se preparó el extracto alcohólico.

b) Muestra de Variable Dependiente:

15 ratas Wistar macho, las cuales fueron seleccionadas por tener 4 meses de edad y 250-350 g de peso. Estas ratas fueron acondicionadas en jaulas individuales y alimentadas con alimento balanceado, controlando la temperatura y humedad der habitáculo, hasta que pudieron ser usados en la parte experimental.

Equipos, materiales y reactivos

Materiales para la elaboración del extracto alcohólico:

Placas Petri de 200x15 mm BOHECO^R

Tubos de ensayo 16x150 mm PIREX^R

Gradilla de metal para 12 tubos HEATHROW SCIENTIFIC^R

Pipetas 5 cc MARIENFELD^R

Gotero Pasteur de plástico

Frascos de boca ancha de 500 ml PIREX^R

Fiolas 25 cc BOHECO^R

Buretas 25 BOHECO^R

Frascos goteros CMF^R

Embudo de vástago chico BOHECO^R

Papel filtro paso lento 3M

Equipos utilizados para la elaboración del extracto alcohólico

Equipo de filtración NEMMET^R

Estufa desecadora NEMMET^R

Desecador NEMMET^R

Balanza analítica SARTORIUS^R

Lámpara ultravioleta ZEIZZ^R

Reactivos usados para la marcha fitoquímica

Solventes (etanol 96%) CKF^R

Cloruro férrico 5%

Reactivo de shinoda

Reactivo de fheling

Reactivo de hidróxido de sodio

Reacción de Bornträger

Reactivo de Dragendorff.

Reactivo de Mayer

Materiales usados para el efecto diurético

Set de cánulas orales MILTEX^R

Algodón 500g CKF^R

Furosemida tabletas

Cloruro de sodio al 0.9% BAXTER^R

Procedimientos

Colección de la planta:

Se realizó en la provincia de Satipo Departamento de Junín. Después de la recolección de la planta se secó a temperatura ambiente por 5 días, luego se trituró.

Clasificación taxonómica:

Se determinó en el Museo de la Historia Natural de la UNMS.

Preparación del extracto:

Cuando ya estuvo triturado las hojas de *Baccharis Trimeria* (*Carqueja*) se extrajeron con etanol 70° por maceración durante 8 días en agitación periódica, posteriormente se filtró y se dejó secar a 40°C en una estufa de aire circulante hasta peso continuo y así se obtuvo el extracto seco. Luego se pesó y almacenó en un envase de vidrio color ámbar y se colocó a refrigeración hasta su posterior uso.

Tamizaje Fitoquímico:

Para poder determinar la presencia de metabolitos provenientes de las hojas de *Baccharis Trimeria* (*Carqueja*) se realizó un tamizaje fitoquímico. Esta prueba es de suma importancia porque a través de ella se pudo determinar los metabolitos secundarios y los componentes que podrían ser los responsables de la actividad farmacológica

Se desarrolló los siguientes ensayos:

a) Determinación de taninos

Con gelatina – cloruro de sodio. A 1mL de muestra se agregó 3 gotas de reactivo, en un se centrifuga. Un precipitado de color blanco en el fondo del tubo de ensayo confirma la presencia de taninos.

Con Cloruro Férrico o Alumbre férrico. A la muestra se agregó unas gotas de cloruro férrico; si se observa una coloración negra azulada nos indica que el

tanino pertenece a los derivados del ácido pirogálico, mientras que la coloración verde nos indica que deriva de la catequina.

b) Determinación de flavonoides

Con R. Shinoda. En un tubo de ensayo se colocó 1mL de muestra con 1 limadura de magnesio pequeña, con un gotero se añadió 3 gotas de HCl concentrado. Si se observa un intenso burbujeo por la reacción de las limaduras y la solución va adquiriendo una débil coloración naranja al principio; conforme va reaccionando más, la coloración naranja se va intensificando, hasta que después de 10 minutos la solución tiene un color anaranjado intenso indica un resultado positivo.

c) Determinación de cumarinas

Se colocó 2 gotas de la muestra en una tira de papel Whatman o algodón y se añadió sobre ella una gota de NaOH 10 %. La observación de fluorescencia verde amarillenta bajo la lámpara UV 365 nm indica la presencia de cumarinas fijas.

d) Determinación de quinonas

Se pesó dos gramos de muestra y se trituró hasta un polvo muy fino en un mortero, luego se realizó los siguientes ensayos químicos:

Solubilidad en NaOH al 5%. En un tubo de ensayo se introdujo 10 mg de la muestra, se añadió 0,2mL de etanol y 0,4mL de NaOH al 5%. El cambio de coloración indica la presencia de compuestos quinónicos.

Reacción de Bornträger. Un gramo de muestra se trató con NaOH 5% en caliente, se filtrará, enfriará y se aciduló con HCl 20%, se añadió benceno, se agitó y se dejó en reposo. Luego se separó la fase bencénica a la cual se le añadirá NH₄OH. La formación de una coloración rosada a roja, indica la presencia de antraquinonas.

e) Determinación de alcaloides

Reactivo de Dragendorff. Después de preparar al instante el reactivo general para alcaloides y acondicionarlo para la prueba, se agregó unas gotas de este reactivo a un tubo de ensayo con muestra a analizar. Si durante la prueba se

forma un precipitado anaranjado, el reactivo ha detectado la presencia de alcaloides.

Reactivo de Mayer. Después de preparar al instante el reactivo general para alcaloides y acondicionarlo para la prueba, se agregó unas gotas de este reactivo a un tubo de ensayo con muestra a analizar. Si durante la prueba se forma un precipitado anaranjado, el reactivo ha detectado la presencia de alcaloides.

Bertrand (ácido silíceo). Se adicionó 10 gotas de muestra problema en un tubo de ensayo, el solvente se evaporó por baño María. Se agregó 5 gotas de HCl 10% más 3 gotas de Bertrand. La presencia de un precipitado blanco es una reacción positiva.

Sonnenschein (ácido fosfomolibdico) Se adicionó 10 gotas de muestra a analizar y se evaporó el solvente por baño María. Con 5 gotas de HCl 10% y 3 gotas del reactivo de Sonnenschein. El precipitado de color amarillo-verdoso es una respuesta positiva

f) Carbohidratos

Molish. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de Molish, se agitó y se adicionó ácido sulfúrico concentrado. Si se observa un anillo violeta, la reacción es positiva.

Antrona. - Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de Antrona. La coloración verde es positiva.

Fehling. – Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de Fehling A y 3 gotas de Fehling B. Luego se calentó en baño María. La coloración rojo ladrillo es positiva.

g) Aminoácidos libres y grupos amino

Ninhidrina. - Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de ninhidrina. Luego se calentó en baño María. La coloración violácea es una reacción positiva.

h) Triterpenoides y esteroides

Lieberman- Burchard. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de indicador. Si presenta una coloración verde-azulado, se evidencia esteroides, si la coloración es rojo-naranja el compuesto es triterpenoides.

I) Saponinas

Generación de espuma. - se agregó 1 mL de muestra problema en + 5 mL de agua destilada y se agitó fuertemente por 1 min. La formación de 0.5 a 1 cm de espuma estable por 15 min, demuestra una reacción positiva.

J) Glicósidos Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de ácido pícrico en hidróxido de sodio (Baljet). Si presenta una coloración anaranjada es positivo.

Procedimiento de la actividad Diurética

Siguiendo el modelo experimental validado de Naik y Col se realizó la parte farmacológica, para ello fue necesario utilizar ratas machos de 260 – 360 de peso de sexo machos y de raza Wistar. Siguiendo el modelo experimental las ratas fueron condicionadas en el bioterio y puestas en cuarentena por un espacio de 8 días tiempo en el cual tuvieron la libertad de alimento y agua a su disposición y en cantidades necesarias, asimismo para cumplir con todas las especificaciones mencionadas en el método, se controló la humedad y la luz parámetro de humedad: (25 ± 1 °C, 55 ± 5 %) parámetro de luz (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad)

Antes de iniciar la fase experimental, las ratas fueron privadas de sus alimentos. Con las ratas ya aclimatadas y acondicionadas, se formaron grupos de investigación, cada grupo estuvo conformado por 3 ratas a un grupo se le administro solución salina, al segundo grupo se le administro suero fisiológico y al tercer cuarto y quinto grupo se le administro las sustancias de estudio.

Las ratas fueron acondicionadas en jaulas metabólicas individuales, para la recolección de la orina se usó beacker de 250 mL y para medir el volumen urinario se usó probeta graduada. Una vez terminada la fase experimental, las ratas fueron eutanzadas con inyección de ketamina para luego ser desechadas en el área de desperdicios biológicos de la universidad.

El porcentaje de diuresis se halló mediante los siguientes cálculos:

$$\% \text{ de diuresis con respecto al Blanco} = \frac{X - \text{volumen de orina del blanco}}{\text{Volumen de orina del blanco}} \times 100 =$$

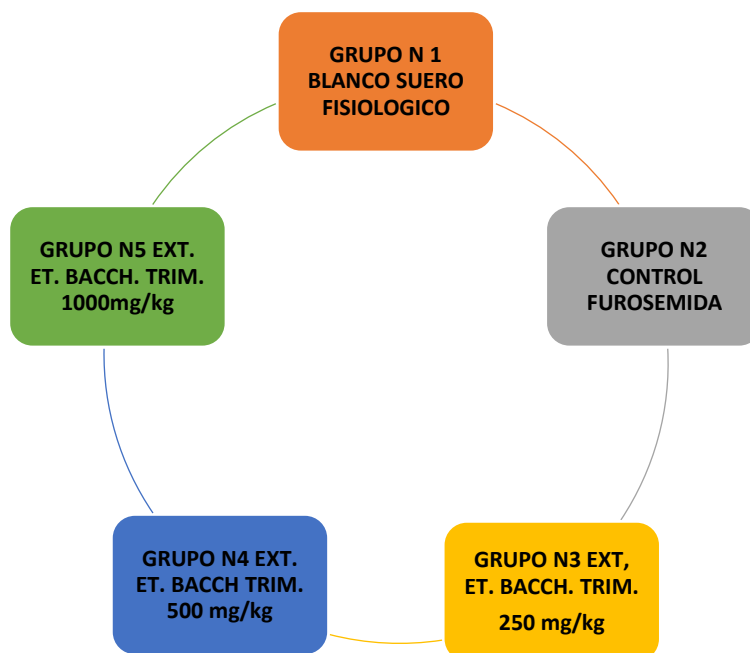
Donde X= volumen de orina del tratamiento

$$\% \text{ de diuresis con respecto al tratamiento} = \frac{\text{Volumen de orina del grupo tratado}}{\text{Volumen de orina del grupo control}} \times 100 =$$

Diseño Experimental de actividad diurética

Se tomaron 5 grupos, bajo el esquema de trabajo que se muestra en la tabla N.1

TABLA N1 TRATAMIENTO FARMACOLOGICO



3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la presente investigación se utilizó diferentes fichas de recolección de datos para verificar la actividad de la muestra, estas pruebas fueron:

- Prueba de Solubilidad
- Marcha Fitoquímica
- Actividad Diurética

3.6 Procesamiento de datos

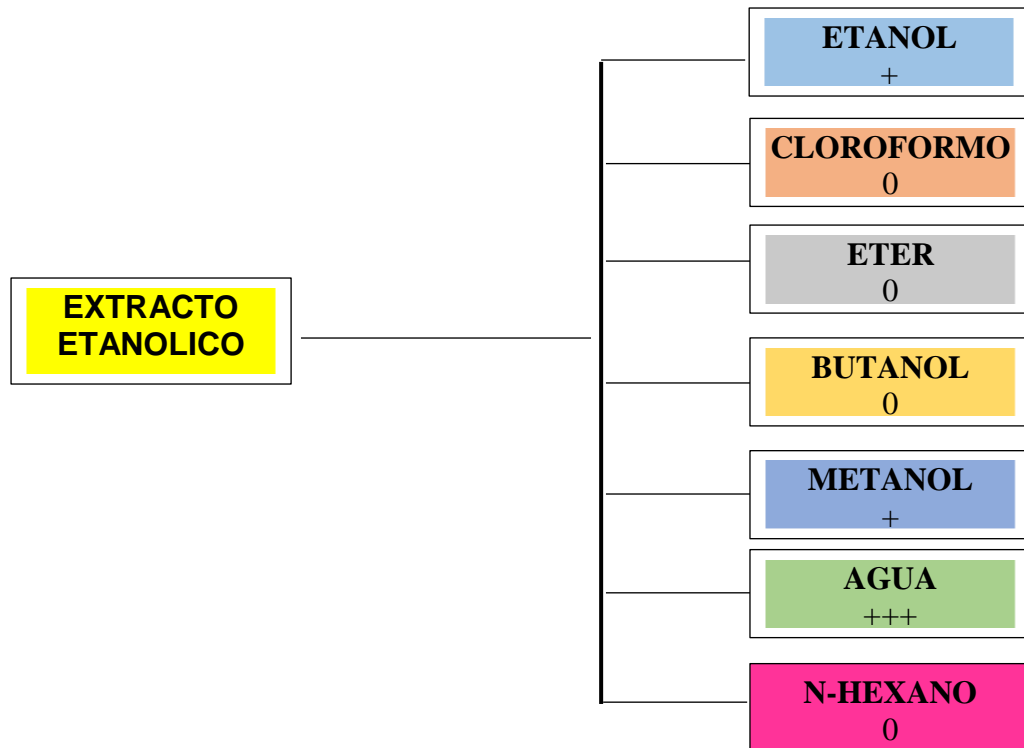
Para interpretar los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, se tomó el tiempo y compararon el volumen de diuresis.

El análisis se realizó con Software SPSS v20. Se utilizó la prueba de normalidad y la estadística inferencial para comparar los resultados

CAPÍTULO IV.
PRESENTACION Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

Tabla N2: Marcha de solubilidad del extracto etanólico de hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja)



LEYENDA:	
Muy Soluble	+++
Soluble	++
Poco soluble	+
Insoluble	0

En la prueba de solubilidad podemos observar que el extracto etanólico de hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) es muy soluble en agua y poco soluble en metanol y etanol

Tabla N3: MARCHA FITOQUÍMICA EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Baccharis trimera* (CARQUEJA)

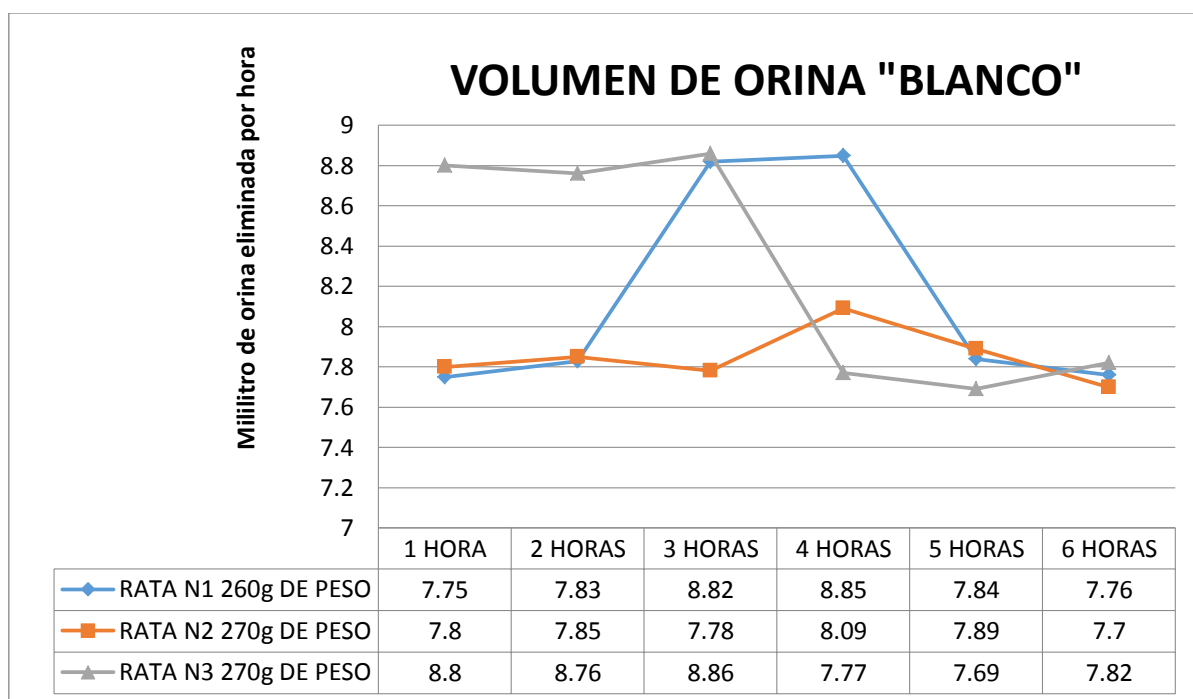
M A R C H A F I T O Q U Í M I C A		CARBOHIDRATOS
		MOLISH + ANTRONA 0 FEHLING +
		COMPUESTOS FENOLICOS
		TRICLORUROFERRICO +
		TANINOS
		GELATINA 0
		FLAVONOIDES
		SHINODA ++
		ANTOCIANINAS
		ROSENHEIN 0
		AMINOACIDOS
		NINHIDRINA 0
		ALCALOIDES
		DRAGENDORFF +++ MAYER + BERTRAND 0 SONNENSCHNEID 0
		ANTRAQUINONAS
	BORTRANGER 0	
	TRITERPENOS ESTEROIDES	
	LIEBERMAN-BURCHARDT 0	
	SAPONNAS	
	AGUA DESTILADA 0	
	CUMARINAS	
	BASES FUERTES 0	
	LEYENDA:	
	Abundante +++ Regular ++ Poco + Nada 0	

ACTIVIDAD DIURÉTICA

TABLA N°4 VALORES DE VOLUMEN DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO EN ml (BLANCO)

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 260g DE PESO	RATA N2 270g DE PESO	RATA N3 271g DE PESO
1 HORA	7.75	7.80	8.80
2 HORAS	7.83	7.85	8.76
3 HORAS	8.82	7.78	8.86
4 HORAS	8.85	8.09	7.77
5 HORAS	7.84	7.89	7.69
6 HORAS	7.76	7.70	7.82
MEDIA	8.14	7.85	8.28
PROMEDIO= 8.09			

GRAFICO N°1 VOLUMEN DE ORINA "BLANCO"



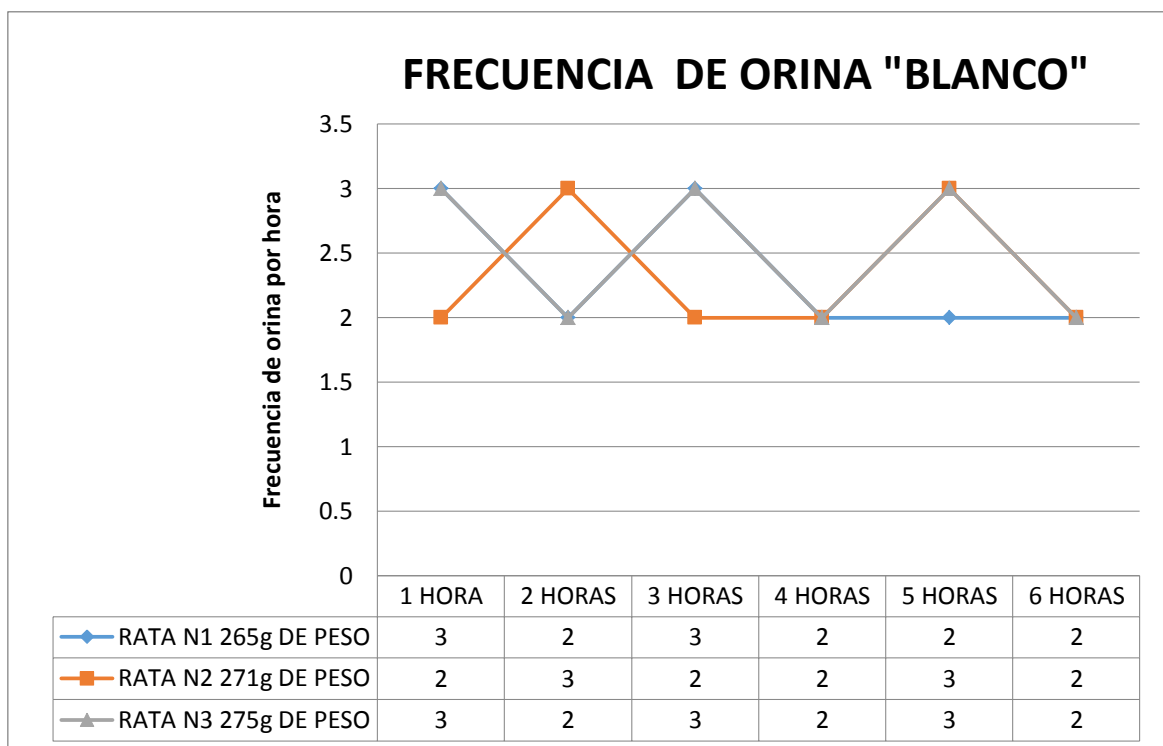
En la tabla N°4 .- El volumen promedio de orina eliminado en la administracion del blanco fue de 8.09 en 6 horas de evaluacion

TABLA N°5 VALORES DE FRECUENCIA DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO (BLANCO)

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 260g DE PESO	RATA N2 270g DE PESO	RATA N3 271g DE PESO
1 HORA	3	2	3
2 HORAS	2	3	2
3 HORAS	3	2	3
4 HORAS	2	2	2
5 HORAS	2	3	3
6 HORAS	2	2	2
MEDIA	2.33	2.33	2.5

PROMEDIO = 2.38

GRAFICO N°2 FRECUENCIA DE ORINA "BLANCO"

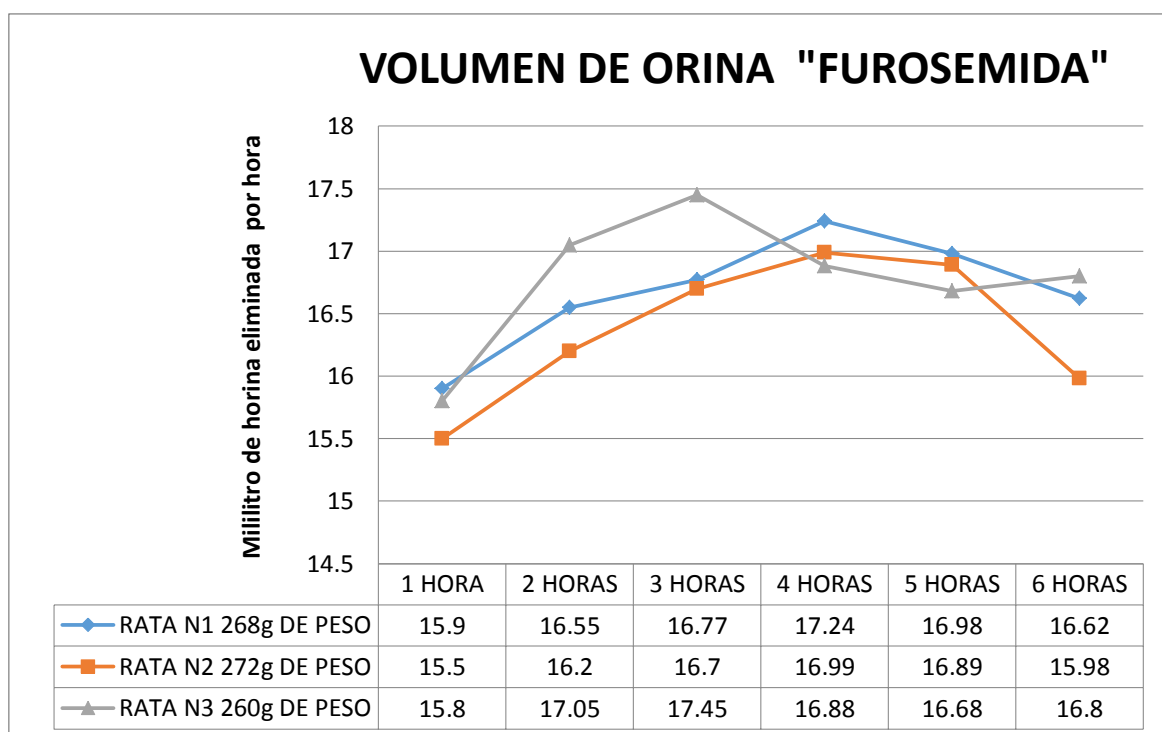


En la tabla N°5 .- El promedio de la frecuencia de orina tras la administración del blanco fue de 2.32 veces en 6 horas de evaluación

**TABLA N°6 VALORES DE VOLUMEN DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO EN ml
(FUROSEMINA 20 mg/kg)**

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 268g DE PESO	RATA N2 272g DE PESO	RATA N3 260g DE PESO
1 HORA	15.90	15.50	15.80
2 HORAS	16.55	16.20	17.05
3 HORAS	16.77	16.70	17.45
4 HORAS	17.24	16.99	16.88
5 HORAS	16.98	16.89	16.68
6 HORAS	16.62	15.98	16.80
MEDIA	16.67	16.37	16.77
PROMEDIO= 16.60			

GRAFICO N°3 VOLUMEN DE ORINA "FUROSEMIDA"



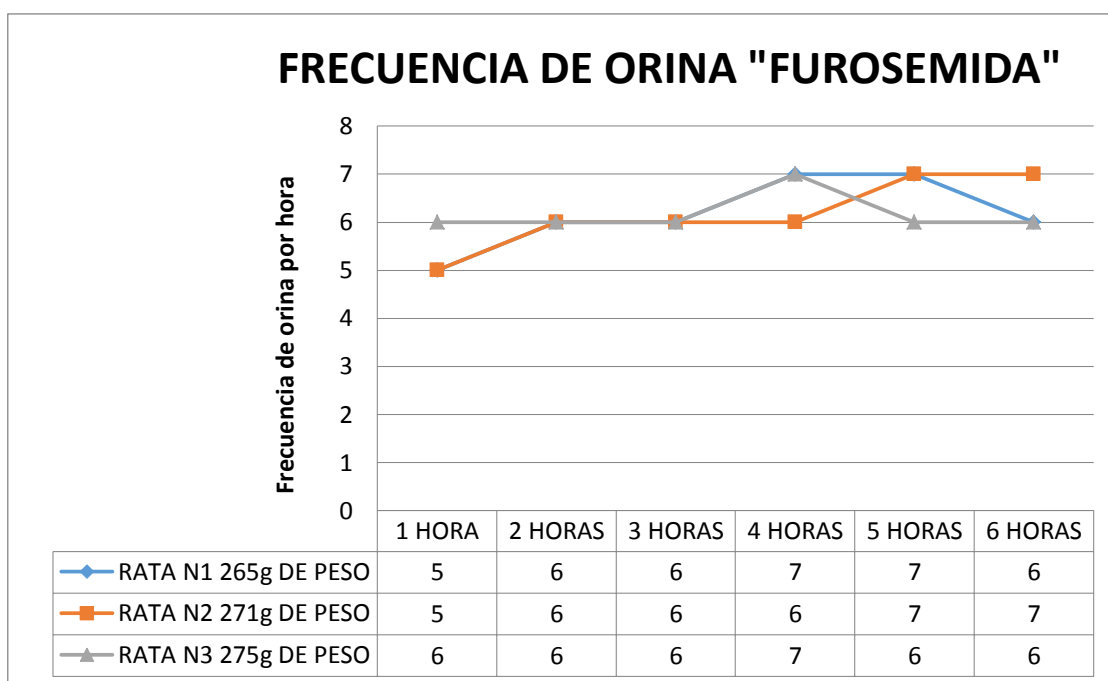
En la tabla N°6 .- El volumen promedio de orina eliminado en la administración del control fue de 16.60 en 6 horas de evaluación

**TABLA N°7 VALORES DE FRECUENCIA DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO
(FUROSEMIDA 20 mg/kg)**

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 268g DE PESO	RATA N2 272g DE PESO	RATA N3 260g DE PESO
1 HORA	5	5	6
2 HORAS	6	6	6
3 HORAS	6	6	6
4 HORAS	7	6	7
5 HORAS	7	7	6
6 HORAS	6	7	6
MEDIA	6.16	6.16	6.16

PROMEDIO = 6.16

GRAFICO N°4 FRECUENCIA DE ORINA "FUROSEMIDA"

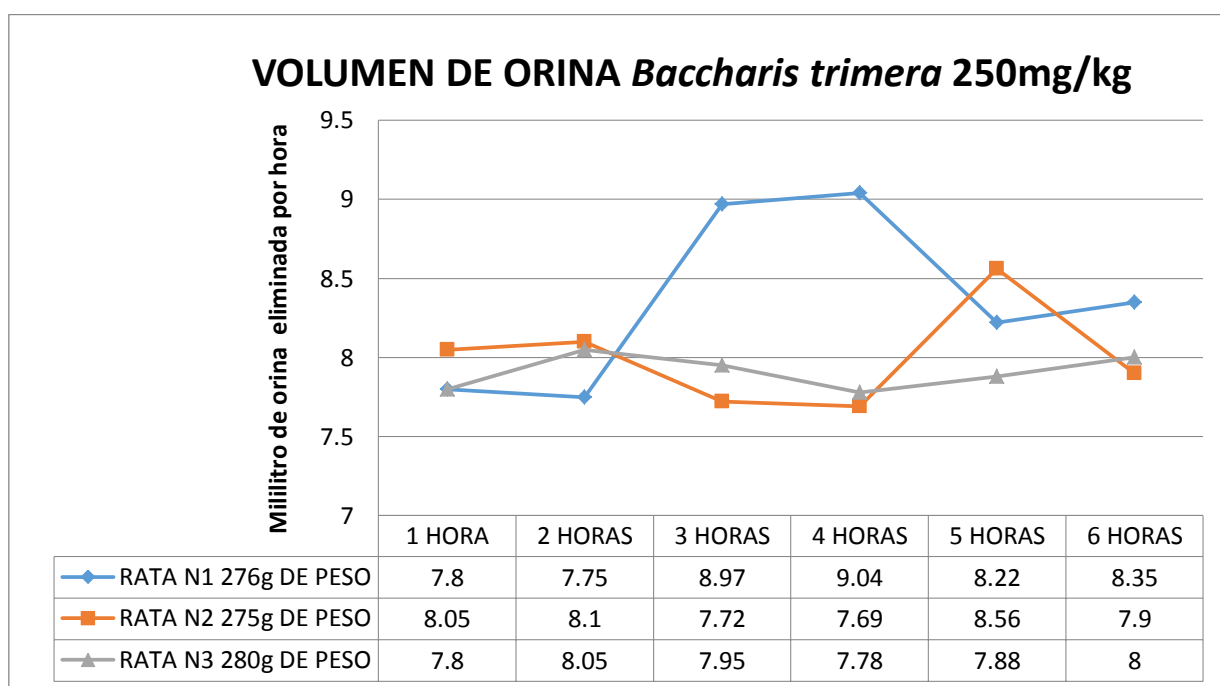


En la tabla N°7 .- El promedio de la frecuencia de orina tras la administración del control fue de 6.16 veces en 6 horas de evaluación

TABLA N°8 VALORES DE VOLUMEN DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO EN ml EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) 250 mg/Kg

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 276g DE PESO	RATA N2 275g DE PESO	RATA N3 280g DE PESO
1 HORA	7.80	8.05	7.80
2 HORAS	7.75	8.10	8.05
3 HORAS	8.97	7.72	7.95
4 HORAS	9.04	7.69	7.78
5 HORAS	8.22	8.56	7.88
6 HORAS	8.35	7.90	8.00
MEDIA	8.35	8.00	7.91
PROMEDIO= 8.08			

GRAFICO N°5 VOLUMEN DE ORINA *Baccharis trimera* 250 mg/kg

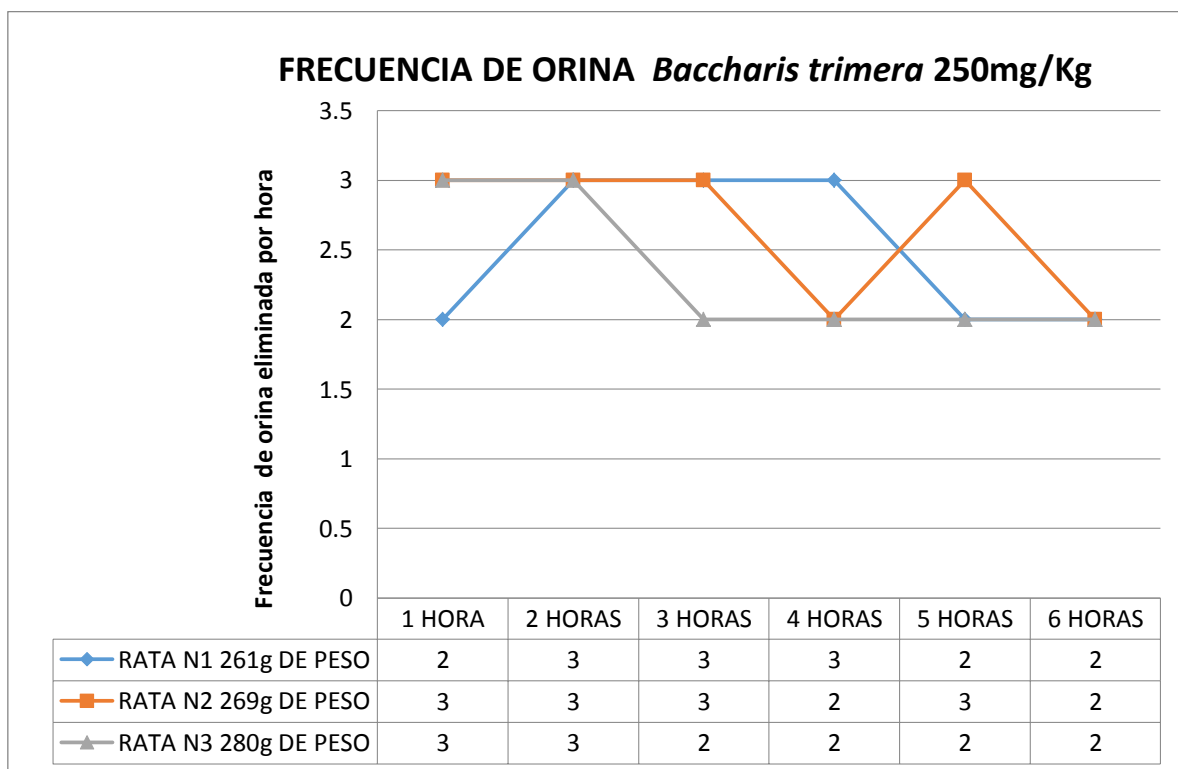


En la tabla N°8 .- El volumen promedio de orina eliminado en la administración del extracto etanolico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) 250 mg/Kg fue de 8.08 ml en 6 horas de evaluación

**TABLA N°9 VALORES DE FRECUENCIA DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA)
250 mg/Kg**

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 276g DE PESO	RATA N2 275g DE PESO	RATA N3 280g DE PESO
1 HORA	2	3	3
2 HORAS	3	3	3
3 HORAS	3	3	2
4 HORAS	3	2	2
5 HORAS	2	3	2
6 HORAS	2	2	2
MEDIA	2.5	2.66	2.33
PROMEDIO=2.49			

GRAFICO N°6 FRECUENCIA DE ORINA *Baccharis trimera* 250 mg/Kg



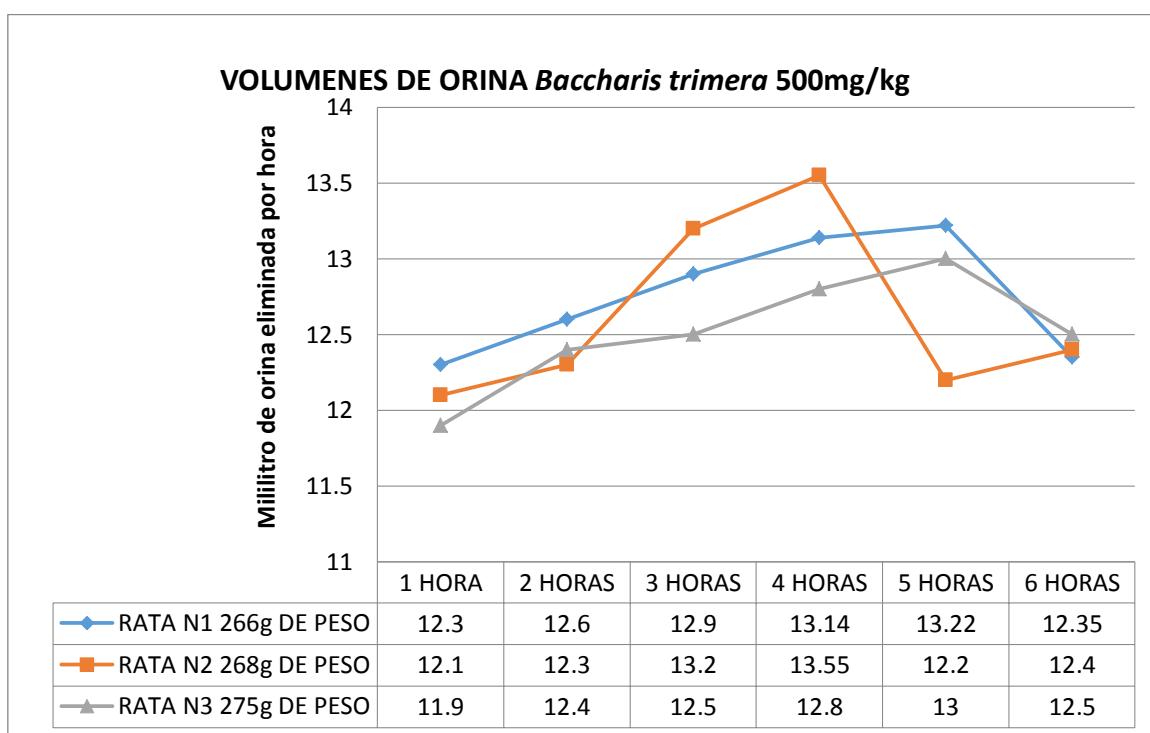
En la tabla N°9 .- El promedio de la frecuencia de orina tras la administración del extracto etanolico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) 250 mg/Kg fue de 2.49 veces en 6 horas de evaluación

TABLA N°10 VALORES DE VOLUMEN DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO EN ml EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Baccharis trimera* (Carqueja) 500 mg/Kg

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 266g DE PESO	RATA N2 268g DE PESO	RATA N3 275g DE PESO
1 HORA	12.30	12.10	11.90
2 HORAS	12.60	12.30	12.40
3 HORAS	12.90	13.20	12.50
4 HORAS	13.14	13.55	12.80
5 HORAS	13.22	12.20	13.00
6 HORAS	12.35	12.40	12.50
MEDIA	12.75	12.62	12.51

PROMEDIO= 12.62

GRAFICO N°7 VOLUMEN DE ORINA *Baccharis trimera* 500mg/kg

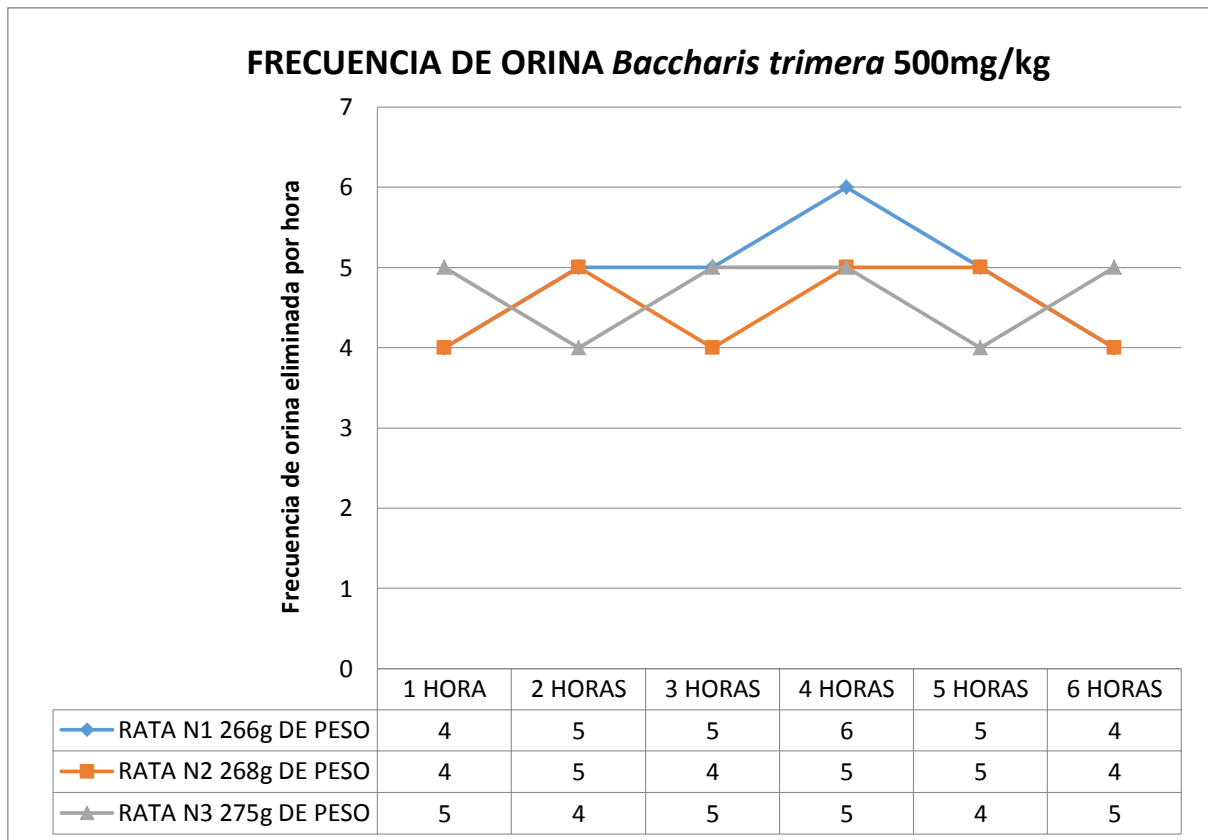


En la tabla N°10 .- El volumen promedio de orina eliminado en la administración del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) 500 mg/Kg fue de 12.62 ml en 6 horas de evaluación

**TABLA N°11 VALORES DE FRECUENCIA DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Baccharis trimera* (Carqueja)
500 mg/Kg**

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 266g DE PESO	RATA N2 268g DE PESO	RATA N3 275g DE PESO
1 HORA	4	4	5
2 HORAS	5	5	4
3 HORAS	5	4	5
4 HORAS	6	5	5
5 HORAS	5	5	4
6 HORAS	4	4	5
MEDIA	4.33	4.5	4.66
PROMEDIO= 4.49			

GRAFICO N°8 FRECUENCIA DE ORINA *Baccharis trimera* 500mg/kg

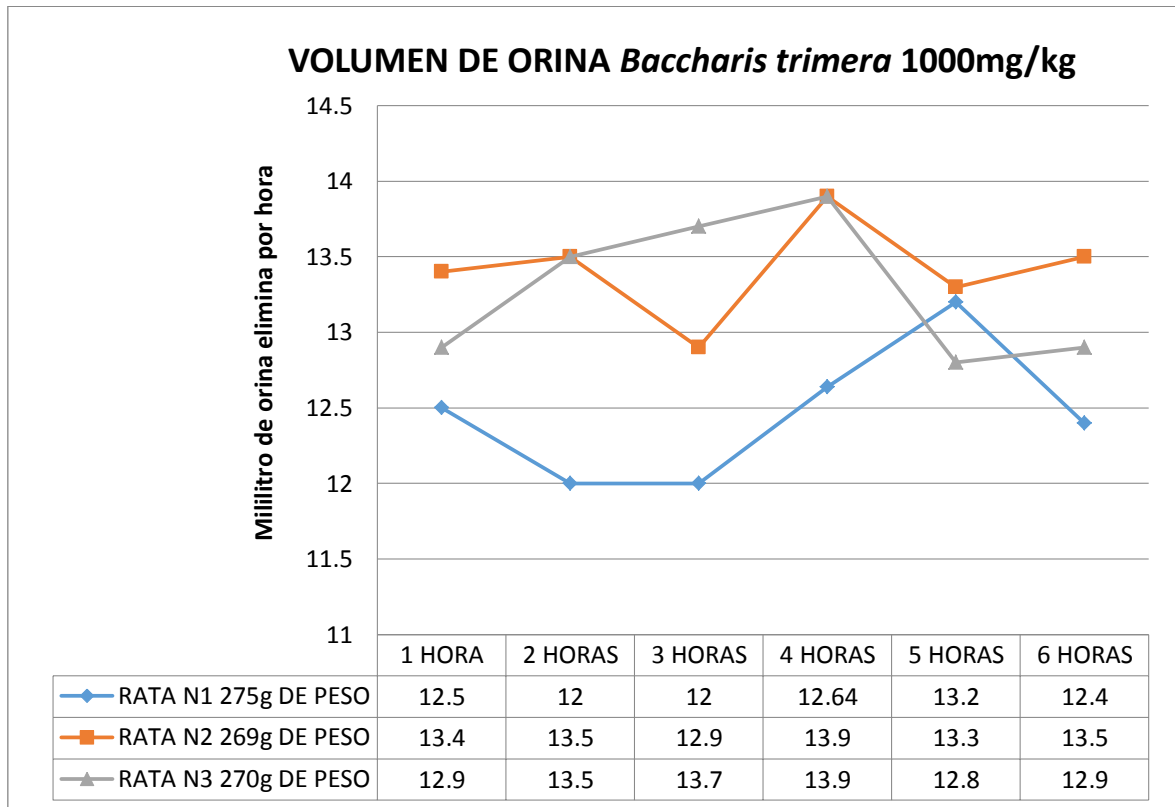


En la tabla N°11 .- El promedio de la frecuencia de orina tras la administración del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) 500 mg/Kg fue de 4.49 veces en 6 horas de evaluación

**TABLA N°12 VALORES DE VOLUMEN DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO EN ml
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Baccharis trimera* (Carqueja)
1000 mg/Kg**

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 275g DE PESO	RATA N2 269g DE PESO	RATA N3 270g DE PESO
1 HORA	12.50	13.40	12.90
2 HORAS	12.00	13.50	13.50
3 HORAS	12.00	12.90	13.70
4 HORAS	12.64	13.90	13.90
5 HORAS	13.20	13.30	12.80
6 HORAS	12.40	13.50	12.90
MEDIA	12.45	13.41	13.28
PROMEDIO= 13.04			

GRAFICO N°9 VOLUMEN DE ORINA *Baccharis trimera* 1000mg/kg

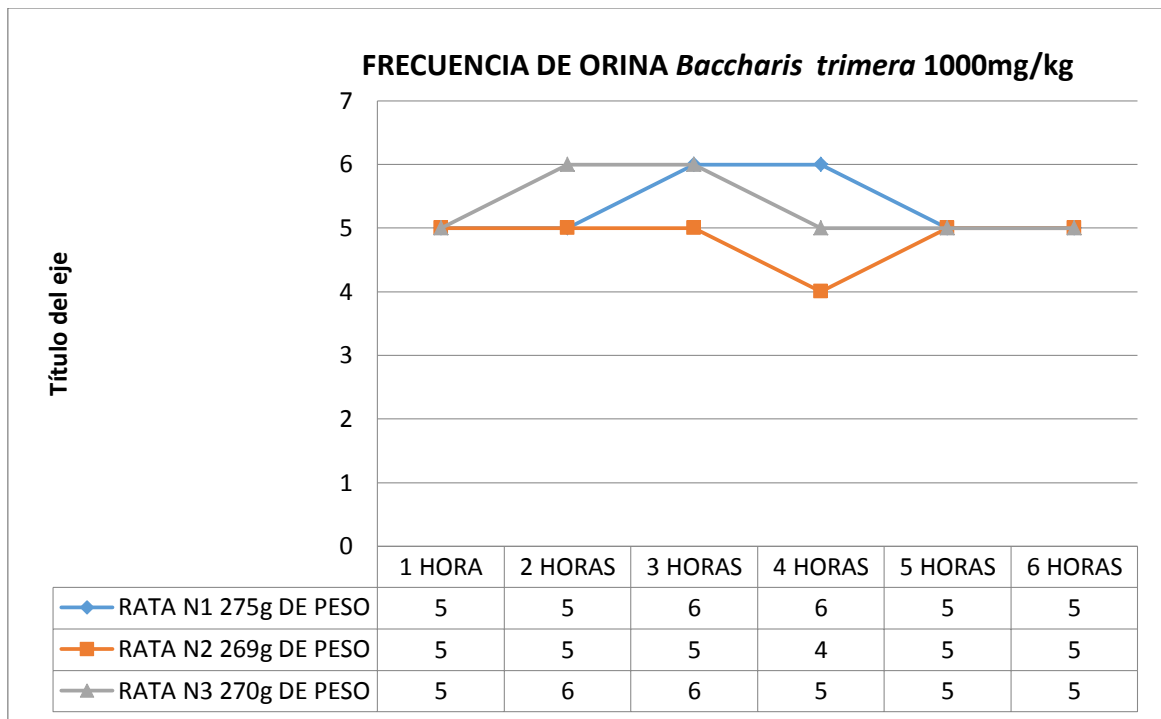


En la tabla N°12 .- El volumen promedio de orina eliminado en la administración del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) 1000 mg/Kg fue de 13.04 ml en 6 horas de evaluación

TABLA N°13 VALORES DE FRECUENCIA DE ORINA A DETERMINADOS TIEMPO
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Baccharis trimera* (Carqueja)
 1000 mg/Kg

TIEMPO EN HORAS	RATA N1 275g DE PESO	RATA N2 269g DE PESO	RATA N3 270g DE PESO
1 HORA	5	5	5
2 HORAS	5	5	6
3 HORAS	6	5	6
4 HORAS	6	4	5
5 HORAS	5	5	5
6 HORAS	5	5	5
MEDIA	5.33	4.83	5.33
PROMEDIO= 5.16			

GRAFICO N°10 FRECUENCIA DE ORINA *Baccharis trimera* 1000mg/kg



En la tabla N°13 .- El promedio de la frecuencia de orina tras la administración del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) 1000 mg/Kg fue de 5.16 veces en 6 horas de evaluación

TABLA N°14 VALORES DE % DE DIURESIS CON RESPECTO AL BLANCO

MUESTRAS	ml DE DIURESIS	% DE DIURESIS CON RESPECTO AL BLANCO
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 250mg/kg	8.08	0.123%
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 500mg/kg	12.62	56.0%
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 1000mg/kg	13.09	61.8%

En la tabla N° 14 Al realizar el cálculo de valores de diuresis con respecto al blanco se puede evidenciar que la concentración de 1000 mg/kg demuestra el mayor porcentaje de diuresis alcanzando un 61.8% en relación al blanco

TABLA N°15 VALORES DE % DE DIURESIS CON RESPECTO AL TRATAMIENTO EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA)

MUESTRAS	ml DE DIURESIS	% DE DIURESIS CON RESPECTO AL TRATAMIENTO
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 250mg/kg	8.08	48.70%
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 500mg/kg	12.62	76.0%
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Baccharis trimera</i> (Carqueja) 1000mg/kg	13.09	78.9%

En la tabla N° 15 Al realizar el cálculo de valores de diuresis con respecto al tratamiento, se puede evidenciar que la concentración de 1000 mg/kg demuestra el mayor porcentaje de diuresis alcanzando un 78.9%

4.2 Contrastación de hipótesis

H.G. Presenta actividad diurética el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja)

H0= El extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) no presenta actividad diurética

H1= El extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) si presenta actividad diurética

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Factor	40,092	7	8,721	1791,333	,001
Error	,155	36	,005		
Total	40,247	43			

Como el p-valor es menor que 0.05 se puede afirmar que el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) si presenta actividad diurética existe actividad. Por lo tanto, se descarta la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1)

4.3 Discusión

Al desarrollar la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja), se observó que la muestra es soluble en solventes polares (Agua, Metanol y Etanol) Tabla N°3, lo cual demostró que los componentes químicos son de estructura y naturaleza polar. Olga Lock de Ugáz en su Libro Investigación Fitoquímica declara que lo similar disuelve a lo similar, con lo cual se explica este resultado. En la Tabla N°4 se reportó los metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) que fueron: flavonoides, alcaloides y fenoles. Estos resultados se comparan a los encontrados por Martinez J. & Chavez O. en su

investigación “Efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* L. (Carqueja) en cepas *escherichia coli* 0104:h4 en donde encontraron los mismos metabolitos secundarios.

Al determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis trimera* (Carqueja) que posee actividad diurética experimentada en ratas albinas, en relación al blanco podemos decir que la concentración de 250mg/kg produce una diuresis del 0.123 por ciento en referencia al blanco, la concentración de 500mg/kg produce una diuresis del 56 por ciento en referencia al blanco y la concentración al 1000mg/kg provoca una diuresis del 61.8 por ciento en relación al blanco. Estos resultados son similares a los hallados por **Alvis a. (2013)** quien realizó el efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) y **Bastidas F. (2016)** quien evaluó el efecto diurético de las hojas de *Maytenus macrocarpa* “chuchuhuasi” encontrando que a las mismas concentraciones se evidencia un efecto diurético importante.

Así mismo, al evaluar el porcentaje de actividad diurética del extracto etanólico de las hojas *Baccharis trimera* (Carqueja) en comparación con el Lasix decimos que, la mayor concentración de este extracto tiene una capacidad diurética menor a la del medicamento control, sin embargo, el efecto diurético es significativo como lo muestra la prueba estadística de contrastación de hipótesis. Estos resultados difieren a los de **Bernal M. (2006)** quien reportó en su investigación titulada, comprobación de la actividad diurética de una flavona aislada del extracto acuoso de *Boldoa purpurascens* (Nitro Blanco) el cual demostró que su muestra provoca mayor efecto diurético que el medicamento control.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) *Baccharis trimera*, presenta metabolitos con actividad diurética tales como flavonoides y compuestos fenólicos.

El extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) *Baccharis trimera* posee actividad diurética experimentada al ser evaluadas en ratas albinas.

El extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) *Baccharis trimera* incrementa el volumen urinario a sus diferentes concentraciones, pero en menor porcentaje que la furosemida usada como fármaco de control.

5.2 Recomendaciones

Realizar estudios con diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) *Baccharis trimera* para demostrar la dosis exacta a administrar.

Realizar estudios toxicológicos para complementar la investigación a fin de determinar la dosis tóxica y evitar inconvenientes en el paciente.

Realizar estudios con nuevas plantas con capacidad medicinal para que sean parte de la alternativa de tratamiento de los pueblos en el interior del país.

Proponer a los agricultores la siembra y cuidado de esta planta para que se inicie, en una actividad productiva económica de los lugareños.

. REFERENCIAS

- 1.- Alarco de Zandra A. Perú, el libro de las plantas mágicas. Concytec, Lima. (1988)
- 2.- Zampini, I.C. Potencialidades fitoterapéuticos de dos especies de *Baccharis* de la Puna de Atacama – Argentina. Universidad Nacional de Tucuman. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Instituto de Estudios Vegetales. 2005.
Disponible en :
<http://www.cori.unicamp.br/jornadas/completos/UNT/PNBA%20Zampini%202.doc>
- 3.- Ramírez J. Mauricio O. Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas Jorge Hernán Ramírez, Mauricio Palacios, Oscar Gutiérrez Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia Biomédica 2006;26:145-9. 2006.
Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/843/84326117.pdf>
- 4.- Ana Gabriela Noriega “Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia* (Lima)”. Universidad de San Carlos de Guatemala facultad de ciencias Químicas y farmacia 2015.
Disponible en:
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3707.pdf
- 5.- Puig M. “Evaluación de la actividad diurética de la mezcla hidroalcohólica de la matricaria chamomilla y *urtica urens*. para optar al título de química y farmacéutica Universidad de Guayaquil 2015.
Disponible en:
<http://repositorio.uq.edu.ec/handle/reduq/9056>
- 6.- Martínez S. et al. “Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas” *Rev Cubana Plant Med* vol.17 no.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. 2012
Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028
- 7.- Daud A. et al. “Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa)”. *Rev Cubana Plant Med* v.12 n.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. 2007
Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028
- 8.- Felipe G, Alejandro. Efecto diurético de los extractos acuosos y secos de *Caesalpinia Bahamensis* Lam (brasilete) en ratas wistar *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3(2).2011
Disponible en:
[https://www.google.com.pe/search?q=Felipe+G.+\(2011\)](https://www.google.com.pe/search?q=Felipe+G.+(2011))
- 9.- Antistio Aníbal Alviz, Rubén Darío Salas, Luis Alberto Franco Efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) en ratas normales. Vol. 33, Núm. 1 (2013)

Disponible en:
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i1.611>

10.- Jainer Cañas Medina. Determinación del efecto antinefrolitiasico y diuretico de la *Manicaria Saccifera*. tesis presentada para optar al título de magister en Ciencias Básicas Médicas. Universidad del Valle Facultad de Salud 2011

Disponible en:
<http://bibliotecadigital.Univalle.edu.com>

11.- Viridiana Morales-Sánchez. Evaluación del efecto antiurolítico del fruto de *Parmentiera aculeata* en rata Wistar. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. Botanical Sciences 93 (2): 1-6, 2015

Disponible en:
<http://www.botanicalsciences.com.mx>

12.- Martín Bernal, Yudeisy. Comprobación de la actividad diurética de una flavona aislada del extracto acuoso de *Boldoa Purpurascens* (Nitro Blanco) Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas 2006

Disponible en:
<http://hdl.handle.net/123456789/705>

13.- Fanny Bastidas García. Efecto diurético de las hojas de *Maytenus Macrocarpa* "Chuchuhuasi" en ratas albinas. Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres. Vol. 21 Núm. 1 (2016)

Disponible en:
<https://www.cimel.felsocem.ne>

14.- Castillo Viera, Segundo Félix. "Efecto diurético de *Phyllanthus niruri* "chanca piedra" y niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus* varo albinus". Universidad Nacional de Trujillo 2011.

Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6181485.pdf>

15.- Apesteuguía Infantes, José Alfonso. Efecto diurético del zumo del fruto del limón (*Citrus limon* L.) en ratas de experimentación para optar al grado académico de Magíster en Farmacología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2009

Disponible en:
<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/228>

16.- Oré de la Paz, Joel Junior "Efecto diurético y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Aeonium Arboreum* (L). Webb. & Berth. "Rosa Verde" en cavia porcel/us "cobayo". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico. Ayacucho -Perú 2015

Disponible en:
<https://www.google.com.pe/search?q=Efecto+diurético+y+dosaje+de+electrolitos>

17.- Martínez Gómez, Edwin "Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de *Physalis Peruviana* L. "Aguaymanto". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga tesis para obtener el título profesional de: químico farmacéutico Ayacucho-Perú 2015

disponible en:
<http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/unsch/1155>

18.- Rita Ramírez Candía. Efecto hipotensor in vivo del extracto seco acuoso de las partes aéreas de *Urtica Magellanica* (Ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME y determinación de la toxicidad aguda. Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2013
Disponible en:

<http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/unsaac/927>

19.- Francisco Javier María Ramírez Cruz "Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas para optar el grado de Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica. Unidad de postgrado 2010

URI: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/240>

20.- López Cabanillas R. Actividad antiurolítica del extracto etanólico de propóleo ayacuchano en ratas. Revista peruana de medicina experimental y salud pública. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú Vol 34 (4) 2017

DOI: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2730>

21.- Petenatti. Medicamentos herbarios en el centro oeste argentina VI Caracterización y control de calidad de dos especies de "carquejas" Lat. Am Pharm 26 201-208

22.- Torres LMB. Determinación de *Baccharis trimera* y su relación con el efecto vascular en ratas 2000: 55 617-619

23.- Olivera Cristiane. Fraccionamiento bioguiado de *Baccharis* en actividad antiinflamatoria universidad federal de rio grande del sur Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2009.

24.- Remington. Farmacia. Vol.1 y 2. 20^o edición. Panamericana.2003

25.- Flórez. J. Farmacología humana. 3ra Edición. Editorial Masson. Barcelona, España. 1997.

26.- Vásquez C. Validación Farmacológica de la Actividad diurética de hojas de Flor de muerto *Tagetes erecta* L, hojas de santo domingo *Baccharis trinervis* Lam y hojas matasano *Casimiroa edulis* Llave. Et Lex. en infusión acuosa en ratas. (Tesis de pregrado). Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2008

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

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

29.- CUBA, MINSAP. Plantas medicinales: Fitomed III. Editorial Ciencias Médicas. Ciudad de la Habana, Cuba. 2000

- 30.- Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, Basic y clinical Pharmacology 11 edition. Copyright @ the Mac Graw Hill companies. 2010
- 31.- Wren, R.C. Enciclopedia de Medicina Herbolaria y Preparados Botánicos. Editorial Grijalbo. San Miguel. 12va edición México. pp. 233-234 2010
- 32.- Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 8ª Edición. Acribia, Zaragoza.2012
- 33.- Goodman y Gilman. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica" Editorial Mc Graw Hill pág. 56 12va Edición (2007)
- 34.- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower JR, Henderson G, Rang y Dale Pharmacology, 7 edición, Madrid, Elsevier, 2011

ANEXOS



ANEXO N° 1 SELECCIÓN DE LA PLANTA



ANEXO N° 2. LAVADO DE LA PLANTA



ANEXO N° 3: SECADO DE LA PLANTA



ANEXO N° 4: TRITURACION DE LA PLANTA



ANEXO N° 5: PREPARACION DEL EXTRACTO



ANEXO N° 6 FILTRADO DEL EXTRACTO



ANEXO N° 7 SECADO DEL EXTRACTO



ANEXO N° 8 OBTENCION DEL EXTRACTO



ANEXO N° 9: PRUEBA DE SOLUBILIDAD



ANEXO N° 10 : MARCHA FITOQUIMICA



ANEXO N° 11: ADMINISTRACION DEL CONTROL



ANEXO N° 12: ADMINISTRACION DEL EXTRACTO



ANEXO N° 13: VOLUMEN DE ORINA



ANEXO N° 14: FRECUENCIA DE ORINA



ANEXO N° 15: ACTIVIDAD DIURETICA

ANEXO N° 16 CERTIFICADO DE LA ESPECIE BOTÁNICA EN ESTUDIO



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



CONSTANCIA N° 374 – USM-2018

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

La muestra vegetal (rama con hojas estéril) recibida por **Chipa Aybar Eliana, Dolorier Silvano**, estudiantes de la **Universidad Inca Garcilaso de la Vega**; ha sido estudiada y clasificada como: ***Baccharis Trimera L.*** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988)

DIVISION: MAGNOLIPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERECEAE

GENERO: *Baccharis*

ESPECIE: *Baccharis Trimera L.*

Nombre vulgar: "carqueja"

Determinado por: Blog. Severo Baldeón Malpartida

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

Lima 23 de Agosto de 2018




Blga. Jasmin Opisso Mejía
JEFE (E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ddb

ANEXO N° 17 CERTIFICADO DEL BIOTERIO DE ADQUISICIÓN DE RATAS



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 202-2018

Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 07- 2018
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	:
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2.5 meses
Peso	: -250 g.	Sexo	: macho
G.R..	: 036139	Destino	: Universidad Inca Garcilaso de la Vega.
Lima	: 20-07-2018		

El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo **Rosales Fernández**. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 20 de julio del 2018
(Fecha de atención y emisión del certificado)


M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

ANEXO N° 18 JUICIO DE EXPERTOS



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE
BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN RATAS

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

- MENOS DE:
50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100
() () () () () (X)
- 1.- ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos?
- 2.- ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema? () () () () (X) ()
- 3.- ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos () () () () () (X)
- 4.- ¿En qué porcentaje estima que las tablas del instrumento son de ejecución viable () () () () () (X)
- 5.- Que porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica () () () () () (X)
- 6.- ¿En qué porcentaje cree usted que con los instrumentos ¿Se obtendrán datos similares si se replicara con otras muestras? () () () () () (X)

SUGERENCIAS:

- 1.- ¿Que items considera usted que deben agregarse?
..... NINGUNO
- 2.- ¿Que items considera usted que deben eliminarse?
..... NINGUNO
- 3.- ¿Que items considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?
..... Ninguno

Fecha 15 Noviembre 2018
Validado por: Mg. Pineda Pere Neuman Ybarra

Firma



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN RATAS

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	MENOS DE: 50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100
1.- ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos?	() () () () () (→)
2.- ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema?	() () () () (→) ()
3.- ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos	() () () () () (✓)
4.- ¿En qué porcentaje estima que las tablas del instrumento son de ejecución viable	() () () () () (✓)
5.- ¿Que porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica	() () () () () (✓)
6.- ¿En qué porcentaje cree usted que con los instrumentos ¿Se obtendrán datos similares si se replicara con otras muestras?	() () () () (✓) ()

SUGERENCIAS:

1.- ¿Que ítems considera usted que deben agregarse?
Ninguno

2.- ¿Que ítems considera usted que deben eliminarse?
Ninguno

3.- ¿Que ítems considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?
Ninguno

Fecha 15-11-18

Validado por: Mg. Q.F. Oscar Flores López

Firma:



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN RATAS

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

- | | MENOS DE: |
|--|------------------------------|
| | 50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100 |
| 1.- ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos? | () () () () () (X) |
| 2.- ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema? | () () () () () (X) |
| 3.- ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos | () () () () () (X) |
| 4.- ¿En qué porcentaje estima que las tablas del instrumento son de ejecución viable | () () () () () (X) |
| 5.- ¿Que porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica | () () () () () (X) |
| 6.- ¿En qué porcentaje cree usted que con los instrumentos ¿Se obtendrán datos similares si se replicara con otras muestras? | () () () () () (X) |

SUGERENCIAS:

- ¿Que items considera usted que deben agregarse?
Sin Novedad
- ¿Que items considera usted que deben eliminarse?
Sin Novedad
- ¿Que items considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?
Sin Novedad

Fecha *15 Noviembre 2018*

Validado por: *Mg. Carlos Cano Perez*

[Handwritten Signature]
Firma

ANEXO N° 19 MATRIZ DE CONSISTENCIA

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN RATAS								
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADORES	ESCALA	METODOLOGIA
¿Presenta actividad diurética el extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) Baccharis Trimera?	Determinar la actividad diurética el extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) Baccharis Trimera	Presenta actividad diurética el extracto etanólico de las hojas de Baccharis Trimera (Carqueja)	Identificación Macroscópica	Hojas de Baccharis trimera (Carqueja)	Ficha Taxonómica	Forma Color Tamaño Textura Consistencia Borde Ápice	(si - no) (si - no) (si - no) (si - no) (si - no) (si - no) (si - no)	<p>Diseño Cuasi Experimental in vivo</p> <p>Tipo: Analítico descriptivo</p> <p>Nivel: Correlacional</p> <p>Población y muestra: Hojas de baccharis trimera Ratas albinas</p> <p>Instrumentos de recolección de datos: Ficha de recolección de datos</p> <p>Instrumentos Reactivos Materiales de laboratorio Estufas Lámpara ultravioleta Jaulas</p> <p>Técnica: método de Naik y Col modificado</p> <p>Procesamiento y análisis de datos: SPSS y ANOVA simple (una vía)</p>
			Identificación Física	Solubilidad	Sistema de Solventes	Grado de solubilidad	POCO SOLUBLE) (SOLUBLE) (MUY SOLUBLE)	
			Identificación Química	Flavonoides Fenoles Taninos Saponinas Leucocianinas Lactónicos Triterpenos Quinonas Alcaloides	Rx de Shinoda Rx de FeCl3 Rx de Proteínas Met. de Espuma Rx Rosenheim Rx de Legal Rx de Liebermann Rx de Borntranger Rx de Dragendorff - Mayer	Rojiza Azul, Verde Blanco Espuma Rojo Verde, Azul Rojo en fase H2O Anaranjado- Blanco- Crema	(+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -)	
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADORES	ESCALA	
¿Qué metabolitos presentaran el extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) Baccharis Trimera?	Obtener el extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) Baccharis Trimera e identificar los metabolitos presentes.	El extracto etanólico de las hojas de Baccharis Trimera (Carqueja) tiene metabolitos secundarios que se pueden definir mediante su perfil fitoquímico.	Actividad Diurética	método de Naik y Col	Ficha de recopilación de datos	% de diuresis con respecto al blanco	%	
¿En qué concentración el extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) Baccharis Trimera posee actividad diurética experimentada en ratas albinas?	Determinar la concentración del extracto etanólico de las hojas de (Carqueja) Baccharis Trimera que posee actividad diurética experimentada en ratas albinas.	La mayor concentración del extracto etanólico de las hojas de Baccharis Trimera (Carqueja) presenta actividad diurética al ser experimentada en ratas albinas.				% de diuresis con respecto al tratamiento		
¿Cuál es el porcentaje de actividad diurética del extracto etanólico de las hojas (Carqueja) Baccharis Trimera en comparación con el Lasix?	Evaluar el porcentaje de actividad diurética del extracto etanólico de las hojas (Carqueja) Baccharis Trimera en comparación con el Lasix.	El extracto etanólico de las hojas Baccharis Trimera (Carqueja) presenta mayor actividad que la especialidad farmacéutica Lasix.						

ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN RATAS

por ELIANA CHIPA dolorier

Fecha de entrega: 26-dic-2018 03:14p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1046576215

Nombre del archivo: a_correcciones_del_turniting_chipa_tesis_nuevo_formato_1_1.docx (13.07M)

Total de palabras: 12713

Total de caracteres: 76252

ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN RATAS

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	3%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	Hugo Justil, Jorge Arroyo, José Valencia. "Extracto etanólico de Baccharis genistelloides (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas*", Anales de la Facultad de Medicina, 2011 Publicación	1%
4	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Universidad Wiener Trabajo del estudiante	1%
6	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	www.cimel.felsocem.net Fuente de Internet	1%

8	biblioteca.usac.edu.gt Fuente de Internet	1%
9	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	1%
10	Submitted to Universidad Internacional de la Rioja Trabajo del estudiante	1%
11	www.scielosp.org Fuente de Internet	1%
12	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	<1%
13	issuu.com Fuente de Internet	<1%
14	www.plantas-medicinal-farmacognosia.com Fuente de Internet	<1%
15	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
16	cuadrocomparativo.org Fuente de Internet	<1%
17	www.recia.edu.co Fuente de Internet	<1%
18	www.scielo.org.co Fuente de Internet	<1%

19	www.herbotecnia.com.ar Fuente de Internet	<1 %
20	www.botanicalsciences.com.mx Fuente de Internet	<1 %
21	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
22	www.imbiomed.com.mx Fuente de Internet	<1 %
23	intranet.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
24	docslide.us Fuente de Internet	<1 %
25	R. Dal-Ré, X. Carné. "Ensayos clínicos con... ¿medicamentos? A propósito de 2 proyectos en enfermedad de Alzheimer y paludismo", Revista Clínica Española, 2013 Publicación	<1 %
26	Submitted to Universidad Andina del Cusco Trabajo del estudiante	<1 %
27	cybertesis.urp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
28	documents.tips Fuente de Internet	<1 %

www.buenastareas.com

29	Fuente de Internet	<1 %
30	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
31	2fwww.redalyc.org Fuente de Internet	<1 %
32	www.afam.org.ar Fuente de Internet	<1 %
33	Submitted to Universidad Dr. José Matías Delgado Trabajo del estudiante	<1 %
34	prepafacil.com Fuente de Internet	<1 %
35	brainly.lat Fuente de Internet	<1 %
36	Submitted to Universidad de Salamanca Trabajo del estudiante	<1 %
37	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
38	Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS Trabajo del estudiante	<1 %
39	Submitted to Escuela Politecnica Nacional Trabajo del estudiante	<1 %

DOUGLAS M.F. DE SOUZA, RAFAELA D. SÁ,