

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



DETERMINACIÓN DEL EFECTO DIURÉTICO DE LOS EXTRACTOS SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70 % Y EXTRACTO SECO ACUOSO AL 20% DE *ZORNIA DIPHYLLA* (Ork'o Runamanayupa) Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE FLAVONOIDES TOTALES.

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Br. FLOR FIORELA CACERES GAYOSO.

Br. MAYHA ZAYURI MARTINEZ VARGAS.

ASESOR:

DR. NERIO GONGORA AMAUT.

CO - ASESOR:

ING. MARIO CUMPA CAYURI.

CUSCO - PERÚ

2016

TESIS AUSPICIADA POR LA UNSAAC

AGRADECIMIENTOS

A nuestra Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por acogernos este tiempo en sus aulas y por habernos ayudado en la realización de este trabajo de investigación.

A nuestra Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por brindarnos una educación de calidad al servicio de la población.

A nuestro asesor Dr. Nerio Góngora Amaut, quien con su experiencia y conocimiento nos facilitó el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación.

A nuestras dictaminantes: Mcs, Carla del Carpio, Mgt. Anahi Cardona y Mcs. Magaly Villena por el tiempo y sugerencias.

Fiorela y Mayha

DEDICATORIA

Dedico de manera especial a mi mamá Margarita Gayoso, pues ella fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentó en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ella tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarla cada día más.

A mi Hermano Gustavo, mis Tías Glusmila y Teresa, primas y primos por el inmenso cariño y apoyo incondicional.

A mis amigas y amigos por estar conmigo y apoyarme siempre.

Fiorela

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, darme las fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A los ángeles, por interceder ante Dios por mí y además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo. Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi hermana Kely, por ser el ejemplo de una hermana mayor y de la cual aprendí aciertos y de momentos difíciles, por su apoyo y consejos que me ayudaron a cumplir mis metas.

A mi hermana Yara, porque estuvo presente en todo momento, siempre muy cerca de mi ofreciéndome su apoyo absoluto y compartir los buenos y malos momentos.

A mis amigos porque siempre estuvieron pendientes de mi progreso universitario día con día y me dieron su apoyo cuando lo necesite sin pedirme nada a cambio. Gracias por confiar y creer en mí.

A ustedes por siempre mi agradecimiento.

Mayha

INDICE

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	III
ABREVIATURAS	V
INTRODUCCIÓN.....	VI

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2. OBJETIVOS.....	2
1.2.1. OBJETIVO GENERAL	2
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
1.3. JUSTIFICACIÓN	2
1.4. HIPÓTESIS	3
1.5. LIMITACIONES.....	3

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1. ANTECEDENTES.....	4
2.1.1. ANTECEDENTES LOCALES.....	4
2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES.....	4
2.1.3. ANTECEDENTES INTERNACIONALES.....	5
2.2. BASES TEORICO CIENTÍFICAS.....	9
2.2.1. ASPECTOS ETNOBOTÁNICOS DE LA ESPECIE EN ESTUDIO.....	9
2.2.2. SINONIMIA DEL NOMBRE COMUN DE LA ESPECIE VEGETAL.....	10
2.2.3. USOS TRADICIONALES:	10
2.3. ASPECTOS ANATOMOFISIOLOGICOS DEL RIÑÓN.....	10
2.3.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL RIÑÓN DE UNA RATA.....	10
2.4. DIURÉTICOS	13
2.4.1. DIURÉTICOS DE ALTA EFICACIA O DIURÉTICOS ASA.....	14
2.5. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATÓMICA.....	16
2.6. FLAVONOIDES.....	20

2.6.1. LOCALIZACIÓN Y ACCIÓN FISIOLÓGICA EN LAS PLANTAS.....	20
2.6.2. ESTRUCTURA QUÍMICA.....	21
2.7. MARCO CONCEPTUAL.....	22

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	24
3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO.....	24
3.3. DISEÑO DE ESTUDIO.....	25
3.3.1. TIPO DE ESTUDIO.....	25
3.3.2. MUESTRA.....	26
3.4. CODIFICACIÓN DEL DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	26
3.4.1. EFECTO DIURÉTICO.....	26
3.4.2. DETERMINACIÓN DE ELECTROLITOS EXCRETADOS EN ORINA.....	28
3.5. VARIABLES IMPLICADAS.....	31
3.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE.....	31
3.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE.....	31
3.6. VARIABLES NO IMPLICADAS.....	32
3.6.1. VARIABLES INTERVINIENTES.....	32
3.7. PROCEDIMIENTO.....	33
3.7.1. FLUJOGRAMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
3.7.2. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	34
3.7.3. ESTUDIO FARMACOLÓGICO.....	36

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

4.1. ENSAYOS PRELIMINARES.....	44
4.1.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD.....	44
4.1.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO.....	45
4.1.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD.....	46
4.1.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO.....	47
4.2. PRUEBAS DEL EFECTO DIURÉTICO.....	49
4.2.1. PERIODO DE LATENCIA.....	49
4.2.2. EXCRECIÓN VOLUMÉTRICA.....	54
4.2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PORCENTAJE DE EXCRECIÓN.....	55

4.3. EXCRECIÓN DE ELECTROLITOS EN ORINA.....	62
4.3.1. CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITOS EXCRETADOS EN ORINA DE RATAS.	62
4.3.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITOS	63
4.4. RELACIÓN SODIO – POTASIO	84
4.5. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES	86
4.5.1. ANÁLISIS ESTADISTICO DE LA CANTIDAD DE FLAVONOIDES.	87
4.5.2. CANTIDAD DE FLAVONOIDES EN DOSIS ADMINISTRADAS.	88
4.5.3. CANTIDAD DE FLAVONOIDES Y LA RELACIÓN CON EL EFECTO DIURÉTICO	89
CONCLUSIONES	90
RECOMENDACIONES.....	92
BIBLIOGRAFÍA.....	i
ANEXOS	v

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1: Operacionalización de las variables.</i>	30
<i>Tabla 2: pruebas de análisis fitoquímico cualitativo.</i>	35
<i>Tabla 3: Distribución de grupos para el estudio del efecto diurético en ratas albinas por vía oral del extracto hidroalcohólico.</i>	38
<i>Tabla 4: Distribución de grupos para el estudio del efecto diurético en ratas albinas por vía oral del extracto acuoso.</i>	38
<i>Tabla 5: Determinación del porcentaje de humedad.</i>	44
<i>Tabla 6: Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico.</i>	45
<i>Tabla 7: Porcentaje de rendimiento del extracto acuoso.</i>	45
<i>Tabla 8: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico y acuoso.</i>	46
<i>Tabla 9: Análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico y acuoso.</i>	47
<i>Tabla 10: Periodo de latencia del extractos hidroalcohólico y acuoso.</i>	49
<i>Tabla 11: Anova del periodo de latencia extracto hidroalcohólico.</i>	49
<i>Tabla 12: Prueba post Hoc o de Tukey del periodo de latencia del extracto hidroalcohólico.</i>	50
<i>Tabla 13: Prueba de subconjuntos homogéneos del periodo de latencia del extracto hidroalcohólico.</i>	51
<i>Tabla 14: Anova del periodo de latencia extracto acuoso.</i>	51
<i>Tabla 15: Prueba post Hoc o de Tukey del periodo de latencia del extracto acuoso.</i>	52
<i>Tabla 16: Prueba de subconjuntos homogéneos del periodo de latencia del extracto acuoso.</i>	53
<i>Tabla 17: Excreción volumétrica de los extractos hidroalcohólico y acuoso.</i>	54
<i>Tabla 18: Anova del porcentaje de excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico.</i>	55
<i>Tabla 19: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico.</i>	56
<i>Tabla 20: Prueba de subconjuntos homogéneos del porcentaje de excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico.</i>	57
<i>Tabla 21: Anova del porcentaje de excreción volumétrica del extracto acuoso.</i>	58
<i>Tabla 22: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de excreción volumétrica del extracto acuoso.</i>	59
<i>Tabla 23: Prueba de subconjuntos homogéneos del porcentaje de excreción volumétrica del extracto acuoso.</i>	60
<i>Tabla 24: Promedios de excreción de electrolitos.</i>	62
<i>Tabla 25: Anova de la excreción de cloro del extracto hidroalcohólico.</i>	63
<i>Tabla 26: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito cloro del extracto hidroalcohólico.</i>	64
<i>Tabla 27: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito cloro del extracto hidroalcohólico.</i>	65
<i>Tabla 28: Anova de la excreción de cloro del extracto acuoso.</i>	66
<i>Tabla 29: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito cloro del extracto acuoso.</i>	67
<i>Tabla 30: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito cloro del extracto acuoso.</i>	68
<i>Tabla 31: Anova de la excreción de cloro del extracto acuoso.</i>	70
<i>Tabla 32: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito potasio del extracto hidroalcohólico.</i>	71
<i>Tabla 33: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito potasio del extracto hidroalcohólico.</i>	72
<i>Tabla 34: Anova de la excreción de potasio del extracto acuoso.</i>	73

Tabla 35 : Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito potasio del extracto acuoso.....	74
Tabla 36: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito potasio del extracto acuoso.	75
Tabla 37: Anova de la excreción de sodio del extracto hidroalcohólico.	77
Tabla 38: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito sodio del extracto hidroalcohólico.	78
Tabla 39: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito sodio del extracto hidroalcohólico.	79
Tabla 40: Anova de la excreción de sodio del extracto acuoso.	80
Tabla 41: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito sodio del extracto acuoso.....	81
Tabla 42: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito sodio del extracto acuoso.	82
Tabla 43: Relación sodio-potasio de los extractos hidroalcohólico y acuoso.	84
Tabla 44: Cantidad de flavonoides en los extractos hidroalcohólico y acuoso.....	87
Tabla 45: Anova de la cantidad de flavonoides del extracto hidroalcohólico y extracto acuoso.....	87
Tabla 46: Prueba T student de la cantidad de flavonoides del extracto hidroalcohólico y extracto acuoso.	88
Tabla 47: Cantidad de flavonoides a las dosis administradas en los extractos hidroalcohólico y acuoso.	88
Tabla 48: Relación del efecto diurético con la cantidad de flavonoides.....	89

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Estructura química de la furosemida.	15
Gráfico 2: Flavonoides estructura base y sus tipos.	21
Gráfico 3: Excreción volumétrica de los extractos hidroalcohólico y acuoso.....	54
Gráfico 4: Porcentajes de excreción volumétrica urinaria del extracto hidroalcohólico.	57
Gráfico 5: Porcentajes de excreción volumétrica urinaria del extracto acuoso.	60
Gráfico 6: Excreción de cloro (mEq/L) del extracto hidroalcohólico.....	65
Gráfico 7: Excreción de cloro (mEq/L) del extracto acuoso.	68
Gráfico 8: Excreción de potasio (mEq/L) del extracto hidroalcohólico.....	72
Gráfico 9: Excreción de potasio (mEq/L) del extracto acuoso.	75
Gráfico 10: Excreción de sodio (mEq/L) del extracto hidroalcohólico.....	79
Gráfico 11: Excreción de sodio (mEq/L) del extracto acuoso.....	82
Gráfico 12: Relación sodio - potasio de los extractos hidroalcohólico y acuoso.....	84
Gráfico 13: Curva patrón de Quercetina.	86

RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue determinar el efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de la parte aérea de ***zornia diphylla*** (Ork'ó Runamanayupa) usando como fármaco patrón la Furosemida en dosis de 5 mg/Kg de peso y relacionando el efecto con el contenido de flavonoides totales.

Para lo cual se realizó un estudio comparativo – correlacional, con diseño experimental de tratamiento múltiple.

Para la determinación del efecto diurético y cuantificación de electrolitos Na⁺, K⁺ y Cl⁻ se utilizaron ratas de la especie *Rattus norvegicus* cepa Holtzman, divididas en dos grupos de 30 animales de experimentación, cada uno fueron ubicadas en jaulas individuales.

- El primer grupo se dividió en 6 grupos de 5 ratas cada uno, a las cuales se les administro el extracto seco hidroalcohólico al 70% usando una sonda orogástrica para la administración oral en 4 diferentes dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/kg de peso; se determinó el volumen de excreción (EVU) y posteriormente se determinó las cantidades de electrolitos Na⁺ y K⁺ por el método de absorción atómica y Cl⁻ por el método de Morh (titulación).
- El segundo grupo se dividió en 6 grupos de 5 ratas cada uno, a las cuales se les administro el extracto seco acuoso al 20% usando una sonda orogástrica para la administración oral en 4 diferentes dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de peso; se determinó el volumen de excreción (EVU) y posteriormente se determinó las cantidades de electrolitos Na⁺ y K⁺ por el método de absorción atómica y Cl⁻ por el método de Morh (titulación).
- La cuantificación de flavonoides totales se realizó por el método espectrofotométrico a una longitud de onda de 425 nm de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de la parte aérea de ***zornia diphylla*** (Ork'ó Runamanayupa) y se relacionó con el efecto diurético.

Los resultados del volumen de excreción (EVU) fueron comparados con los obtenidos para la furosemida en dosis de 5 mg/Kg de peso, las dosis de 300 y 400 mg/kg de peso del extracto seco acuoso al 20% fueron los resultados mayores respecto al patrón; también se obtuvo en ambos extractos que a mayor concentración de flavonoides mayor efecto diurético.

En la determinación de la cantidad de electrolitos se obtuvo que el mejor resultado fue el de la dosis de 300 mg/kg de peso del extracto seco acuoso al 20%; siendo estos: 145.60 mEq/L de Na⁺, 9.51 mEq/L de K⁺, 155.52 mEq/L de Cl⁻.

En la cuantificación de flavonoides totales se obtuvo que la cantidad de flavonoides para el extracto seco hidroalcohólico al 70% fue de 149.88 mg Q/g mp y para el extracto acuoso al 20% fue de 165.47 mg Q/g mp. La relación entre el efecto diurético con la cantidad de flavonoides totales es que, a mayor dosis mayor el efecto diurético y mayor cantidad de flavonoides obteniéndose a la dosis de 400 mg/Kg para ambos extractos seco hidroalcohólico y acuoso 69.44% y 88.27% respectivamente siendo estos los máximos obtenidos.

Con los resultados obtenidos en el volumen de excreción, determinación de la cantidad de electrolitos y cuantificación de flavonoides totales, se realizó la prueba de ANOVA y Post- ANOVA para valorar las diferencias significativas y se halló que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras de los extractos.

Se comprobó el efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico y acuoso de ***zornia diphylla*** (Ork'o Runamanayupa).

PALABRAS CLAVES: Extracto Hidroalcohólico; Extracto Acuoso; Diurético; Electrolitos; Absorción Atómica; Titulación; Espectrofotómetro.

ABSTRACT

The aim of the research was to determine the diuretic effect of dry hydroalcoholic extracts 70% and 20% aqueous dry air of *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) using as standard drug Furosemide at a dose of 5 mg/Kg and the effect relating to the content of total flavonoids.

The one for which a comparative study was accomplished – correlacional, patterned experimental of multiple treatment.

For determining the diuretic effect and quantification of electrolytes Na^+ , K^+ and Cl^- rats *Rattus norvegicus* the Holtzman strain, divided into two groups of 30 experimental animals, they were each one located in individual cages.

- The first group was divided in 6 groups of 5 rats each, which were administered the dry hydroalcoholic extract 70% using a gastric tube for oral administration in 4 different doses of 100, 200, 300 and 400 mg/Kg; volume excretion (EVU) was determined and then the amounts of electrolytes Na^+ and K^+ were determined by the atomic absorption method and Cl^- by the method Morh (titration).
- The second group was divided into 6 groups of 5 rats each, which were administered the dry extract aqueous 20% using a gastric tube for oral administration in 4 different doses of 100, 200, 300 and 400 mg/Kg; volume excretion (EVU) was determined and then the amounts of electrolytes Na^+ and K^+ were determined by the atomic absorption method and Cl^- by the method Morh (titration).
- The quantification of total flavonoids was performed by the spectrophotometric method at a wavelength of 425 nm of dry hydroalcoholic extracts 70% and dry aqueous 20% of the aerial part of *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) and related to the diuretic effect.

The results of the volume excretion (EVU) were compared with those obtained for the furosemide dose of 5 mg/Kg, doses of 300 and 400 mg/Kg of dry extract aqueous 20% the best results were compared to standard; It was also obtained in both extracts at more larger dose diuretic effect.

The determination of the electrolyte the best results was the dose of 300 mg / Kg of dry extract aqueous 20%; these being: 145.60 mEq/L Na^+ , 9.51 mEq /L K^+ , 155.52 mEq /L Cl^- .

It was obtained in total flavonoids's quantification than flavonoids's quantity for the dry hydroalcoholic extract to the 70 % was 149,88 mg Q/g mp and the watery extract to the 20 % was 165,47 mg Q/g mp; The relation between the diuretic effect with total flavonoids's quantity is, to bigger dose the diuretic effect and bigger flavonoids's quantity, to 400 mg/Kg's dose for both extract hydroalcoholic and watery were 69.44 % and 88.27 % respectively these results were the better.

With the results obtained in the volume of excretion, determination of the amount of electrolytes and quantification of total flavonoids, the ANOVA test and Post- ANOVA

was performed to test for significant differences and found that there were significant differences between the means of each of the samples of the extracts.

KEYWORDS: HYDROALCOHOLIC EXTRACT; AQUEOUS EXTRACT; DIURETIC; ELECTROLYTES; ATOMIC ABSORPTION DEGREE; SPECTROPHOTOMETER.

ABREVIATURAS

- HTA: Hipertensión arterial.
- ADH: La hormona diurética.
- pH: Potencial de hidrogeniones.
- NaCl: Cloruro de sodio.
- Kg: Kilogramos.
- g: Gramos.
- mg: Miligramos.
- L: Litros.
- mL: Mililitros.
- p/v: Peso/ Volumen.
- cm: Centímetros.
- mm: Milímetros.
- µg: Micro gramos.
- µL: Micro litros.
- H: Horas.
- H⁺: Ión de hidrogeno.
- Na⁺: Ión sodio.
- K⁺: Ión potasio.
- Ca²⁺ : Ión calcio.
- Mg²⁺: Ión magnesio.
- Cl⁻: Ión cloro.
- HCO₃⁻: Ión carbonato.
- H₂PO₄⁻: Ión fosfato.
- °C: Grados Celsius.
- %H: Porcentaje de humedad.
- mEq/L: Mili equivalentes por litro.
- HCl : Ácido clorhídrico.
- NaOH: Hidróxido de sodio.
- KOH: Hidróxido de potasio.
- EVU%: Porcentaje de excreción volumétrica urinaria.
- mgQ: Miligramos de Quercetina.
- mp: Muestra problema.

INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existe medio millar de plantas superiores. Sin embargo solo el 5 – 10% han sido investigadas con respecto a su composición química, la relación estructura - función o actividad biológica. Debido a ello es necesario estudiar rigurosamente los compuestos químicos, específicamente su estructura y función presentes en plantas y que pueden tener un potencial farmacéutico. ⁽¹⁾

Las plantas han sido usadas como fuente de medicina a través de la historia y continúan siendo la base de muchos fármacos empleados actualmente. A inicios de los años noventa, la Organización Mundial de la Salud identificó que el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para asistir problemas de salud. ⁽²⁾

En la actualidad existen muchos esfuerzos orientados a realizar estudios en plantas medicinales, con fines terapéuticos, motivados de un lado por el interés de la farmacología en disponer de nuevas moléculas, con elevada efectividad para el tratamiento de determinadas enfermedades y de otro lado, por la necesidad de la industria farmacéutica en la producción de fitofármacos con menos efectos adversos y/o tóxicos. Por lo que, investigaciones que tengan como objeto el estudio y procesamiento de plantas medicinales con fines terapéuticos se consideran estratégicos e importantes. ⁽³⁾

En el mundo, las enfermedades cardiovasculares son responsables de aproximadamente 17 millones de muertes por año, casi un tercio del total. Entre ellas, las complicaciones de la hipertensión causan anualmente 9,4 millones de muertes. La hipertensión es la causa de por lo menos el 45% de las muertes por cardiopatías y el 51% de las muertes por accidentes cerebro vasculares. ⁽⁴⁾

Los diuréticos son fármacos de primera línea en el tratamiento de la hipertensión por sus efectos beneficiosos sobre la morbilidad cerebro vascular y en menor medida sobre la cardiopatía isquémica. Estos incrementan la eficacia antihipertensiva de esquemas con multifármacos útiles en lograr el control de la presión arterial y son más asequibles y menos costosos que otros agentes. ⁽⁵⁾

El presente trabajo, tiene el objeto de estudiar la posible actividad diurética de la parte aérea de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa); debido a que no existe estudios referentes a sus propiedades medicinales atribuidos en el uso tradicional

CAPÍTULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El valor de los remedios folklóricos es reconocido actualmente por la medicina moderna, la investigación de nuevos y potenciales fármacos derivados de plantas es más exitosa si estas son elegidas sobre una base etnomédica ya que fue demostrado ampliamente que existe una significativa correlación entre los efectos farmacológicos de uso popular y su evidencia científica. El reconocimiento de su valor como recurso clínico, farmacéutico y económico va en aumento. ⁽⁵⁾

Los diuréticos son fármacos que aumentan la excreción de sodio y agua del organismo a través del riñón. Su efecto principal es la reducción de la reabsorción de sodio y cloruro del filtrado y el aumento de la pérdida de agua es secundario al incremento de la excreción de NaCl. ⁽⁶⁾

Los diuréticos son las drogas más utilizados en la medicina moderna, estos fármacos son muy eficaces en el tratamiento de edemas, hipertensión arterial, cálculos renales y otras patologías que afectan el normal funcionamiento de los compartimentos líquidos del organismo.

Los riñones solo representan el 0,4% del peso corporal. Desempeñan un papel importante en la regulación del volumen corporal total, composición de electrolitos, el equilibrio ácido – básico, metabolismo mineral, metabolismo de aminoácidos, eritropoyesis, control de la presión arterial y muchas otras funciones metabólicas y endocrinas. ⁽⁷⁾

En la actualidad el aumento en el número de pacientes con afecciones renales conlleva a un incremento en el consumo de fármacos diuréticos, que traen consigo alteraciones bruscas en el equilibrio electrolítico.

Dentro de las plantas de la flora peruana encontramos a la **Zornia diphylla** (Ork'ó Runamanayupa) que es utilizado como diurético por la población de Suyo – Quinuay (Anexo N° 9), por ser de origen natural y ser mucho más accesible. Se utiliza en infusión, también se le reconocen otros usos que no están comprobados; por lo que se ha considerado oportuno determinar si tiene efecto diurético por su tradicional recomendación en enfermedades como la hipertensión arterial. El uso de **Zornia diphylla** (Ork'ó Runamanayupa) en la medicina tradicional o medicina alternativa se centra en el tratamiento de afecciones renales; por tanto, el uso tradicional nos motivó a realizar el estudio para así poder demostrar el efecto diurético y la relación con el contenido de flavonoides totales.

1.1.1. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Presentarán los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) administrados por vía oral, efecto diurético y cuál será su relación con el contenido de flavonoides totales?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) administrado por vía oral en ratas albinas.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1) Determinar el porcentaje de humedad y extracción de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa).
- 2) Realizar el análisis fitoquímico cualitativo de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa).
- 3) Determinar el efecto diurético de los extractos seco por el método de Lipshitz.
- 4) Determinar la concentración de electrolitos excretados en orina total por el método de absorción atómica y titulación.
- 5) Relacionar la concentración de electrolitos excretados en orina con el efecto diurético.
- 6) Cuantificar los flavonoides totales presentes en el extracto seco hidroalcohólico al 70% y extracto seco acuoso al 20% por el método de espectrofotometría.
- 7) Establecer la relación entre el efecto diurético del extracto con mayor efecto y su contenido de flavonoides totales.

1.3. JUSTIFICACION

CONOCIMIENTO:

El Perú es un país con una extraordinaria riqueza vegetal, fuente natural de moléculas bioactivas. Los severos efectos colaterales de muchas drogas sintéticas y la falta de drogas efectivas en la causa de muchas enfermedades, es aún una característica insalvable de la farmacología moderna. Sin embargo las plantas usadas en la medicina tradicional se constituyen en una fuente casi inagotable de moléculas, cuyo análisis se está facilitando por la disponibilidad de bioensayos en Vitro que sirven de guía en la investigación fitoquímica moderna. ⁽⁸⁾

APLICABILIDAD:

Este estudio está encaminado a demostrar el efecto diurético en ratas albinas, atribuido a *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) y relacionarlo con el contenido de flavonoides totales y de esta manera luego de estudios complementarios poder ser usada en tratamientos de afecciones renales, tal como es la hipertensión arterial, enfermedad que aqueja a gran número de la población, en la cual los diuréticos juegan un papel importante en el manejo de la enfermedad.

PRIORIDAD:

Estudios previos han reportado resultados sobre la identificación, cuantificación y propiedades farmacológicas de los flavonoides en diversas especies de nuestra región. Pero hasta el momento, no se ha realizado un estudio de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa),

También el propósito de este trabajo es demostrar el efecto diurético *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) e incentivar a la investigación de plantas de nuestra región con propiedades medicinales.

1.4. HIPOTESIS

Los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) administrados por vía oral presentan efecto diurético y tiene relación directa a la cantidad de flavonoides totales.

1.5. LIMITACIONES

En el presente trabajo, se pudo encontrar limitaciones bibliográficas, las cuales nos limitaron en los protocolos de trabajo, ya que no pudimos encontrar trabajos publicados realizados en nuestra localidad ni en nuestro país; también tuvimos dificultad en la discusión de resultados, por la misma razón de carecer de información respecto a la planta, ya que es una planta de reciente estudio, no se pudo comparar con trabajos de investigación de la especie y/o familia por ello se compararon con especies que presentan efecto diurético.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1. ANTECEDENTES.

2.1.1. ANTECEDENTES LOCALES.

- **Aréstegui Ingrid, Sánchez Edison; Comparación del efecto diurético de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Urtica magellanica Poir* (ortiga) y determinación de electrolitos excretados en orina (sodio, potasio y cloro) en ratas – Perú. Tesis UNSAAC, 2007**

Objetivo: Se realizó la comparación del efecto diurético de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Urtica magellanica Poir* y la determinación de electrolitos excretados.

Método: Se utilizaron dos extractos secos hidroalcohólico al 70% y acuoso al 20% en dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg ambas administradas por vía oral y los resultados fueron comparados con los de la Furosemida (25mg/Kg), se colectaron y se determinaron los volúmenes finales y se realizó la cuantificación de las concentraciones de sodio, potasio y cloro.

Resultados: Se demostró que el extracto acuoso al 20% produce una excreción volumétrica urinaria similar a la de la Furosemida y que la dosis a la cual hay mayor excreción de electrolitos es a la de 400 mg/Kg y que los extractos tanto el hidroalcohólico como el acuoso a diferentes dosis administradas presentan mayor cantidad de electrolitos superiores a la Furosemida.

Conclusión: El extracto acuoso tiene mayor efecto diurético y excreción de electrolitos respecto al extracto hidroalcohólico.

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES.

- **Ramírez Cruz Francisco Javier María; Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze “Canchalagua” en ratas albinas – Lima. Tesis, 2010.**

Objetivo: Realizar el análisis cualitativo y evaluar el efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* “canchalagua”.

Método: Se utilizaron 32 ratas, de la línea Sprague-Dawley. Cada una de las ratas fue administrada oralmente con 25 ml/Kg de solución fisiológica (NaCl 0,9%), treinta minutos después los animales fueron separados

aleatoriamente en 4 grupos de 8 animales cada uno a los que se les administro: suero fisiológico (2mL/Kg) control negativo, furosemida (10mg/Kg) control positivo, *Schkuhria pinnata* (100 mg/Kg) y ***Schkuhria pinnata*** (200 mg/Kg); la excreción urinaria se midió en mL cada hora durante 5 horas.

Resultados: La dosis de 200 mg/Kg de ***Schkuhria pinnata*** presenta efecto diurético respecto al grupo control.

Conclusión: Se demostró que el extracto etanólico de ***Schkuhria pinnata*** L tiene efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal, en los modelos experimentales trabajados.

2.1.3. ANTECEDENTES INTERNACIONALES.

- **Vargas Howell Roberto y Ulate Montero Guido; Actividad diurética de la *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) en ratas albinas – Costa Rica. Revista de biología tropical, 1995.**

Objetivo: Estudiar el posible efecto diurético atribuido a las hojas de *Cecropia obtusifolia*, Bertol por medicina tradicional costarricense

Método: Se utilizaron cinco ratas Sprague Dawley, que fueron ubicadas en jaulas metabólicas individuales. Durante la semana del periodo de control se les administró agua destilada por medio de una cánula intragástrica y, por otra semana, recibieron un extracto acuoso de las hojas de ***C. obtusifolia***, a una dosis de 500 mg/Kg por día, intragástricamente.

Resultados: El flujo urinario aumentó ($p < 0.05$) en un 20% cuando recibieron el extracto, sin embargo, no hubo diferencia significativa en cuanto a la excreción de sodio y potasio, ingesta de agua y comida diarias. El peso de los animales se redujo cuando recibieron la ***C. obtusifolia***, pero el decremento fue significativo ($p < 0.05$) solo en un día del experimento.

Conclusión: El extracto acuoso de las hojas de ***C. obtusifolia*** posee un leve efecto diurético.

- **Calzada Álvarez Sonia, León Padilla María Del Carmen, Tillan Capo Juana, Hernández Rodríguez Alberto, Cárdenas Freixas José Luis; Efecto Diurético y Toxicidad Aguda del *Orthosiphon Aristatus Blume* (Te de Riñón) – Cuba. Tesis, 1996.**

Objetivo: Evaluar el posible efecto diurético y toxicidad aguda del ***Orthosiphon Aristatus Blume*** (té de riñón).

Método: Se utilizó el extracto seco al 20 % p/v de ***Orthosiphon Aristatus Blume*** (Te de Riñón), además se calcularon la DE50 y los extractos fluidos equivalentes. Los resultados fueron comparados con los obtenidos para la furosemida en dosis de 5, 10, 20 mg/Kg. La excreción urinaria se

midió por hora hasta la sexta hora, se le determinaron a este volumen final las concentraciones de sodio y potasio, también se analizaron estos electrolitos en el plasma sanguíneo.

Resultado: Se comprobó la actividad diurética de la decocción de ***Orthosiphon Aristatus Blume***, efecto dosis dependiente, acompañada de una natriuresis y kaluresis significativas, la DE 50 correspondió a 200 mg/Kg.

Conclusión: El extracto fluido no tuvo un comportamiento similar, debido fundamentalmente al vehículo hidroalcohólico empleado en su preparación. El extracto fluido de ***Orthosiphon Aristatus*** no mostro toxicidad en la dosis de 2000 mg/Kg.

- **Jiménez Nieves, León Padilla María Del Carmen, Tillan Capo Juana, Hernández Rodríguez Alberto, Cárdenas Freixas José Luis. Efecto Diurético Del *Xanthium strumarium L.* (Guizazo De Caballo) – Cuba. Tesis, 1999.**

Objetivo: Evaluar el posible efecto diurético del extracto fluido, en solución hidroalcohòlico al 65% de ***Xanthium strumarium L.***

Método: Se realizó un estudio experimental en ratas línea Wistar, para el mismo se probaron tres niveles de dosis: 100; 200 y 400 mg/Kg de peso corporal. Los resultados fueron comparados con los obtenidos por la Furosemida en la dosis de 5 mg/Kg de peso (diurético de referencia) y con el cloruro de sodio 0,9% (control). La excreción urinaria se midió por hasta la sexta hora y se le determinó al volumen final la concentración de sodio y potasio.

Resultados: Se pudo comprobar la similitud entre la acción diurética del extracto y la furosemida acompañada de natriuresis y kaluresis significativa. Conclusión: la solución hidroalcohólica al 65% de ***Xanthium strumarium L.*** presenta efecto diurético similar a la Furosemida.

- **Daud Adriana, Habit Natalia, Sánchez Alicia; Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas – Argentina. Tesis, 2005.**

Objetivo: Valorar el posible efecto diurético del extracto acuoso y etanólico de flores de ***Phrygilanthus acutifolius*** (corpo) en dosis de 200 y 400 mg/Kg de peso corporal.

Método: Se utilizaron ratas de la línea Wistar, los resultados fueron comparados con los obtenidos con la furosemida; diurético de referencia, en la dosis de 20 mg/Kg de peso y con solución fisiológica utilizado como control negativo, la excreción urinaria se midió a las 24 H y se determinó en el volumen final la concentración de Na⁺, K⁺, Cl⁻ y P.

Resultados: Los extractos acuosos de 200 mg/Kg y alcohólico de 200 mg/Kg demostraron tener mayor poder natriurético respecto a las otras dosis estudiadas. Al compararlos con la furosemida se observó que la excreción de potasio en orina disminuyó lo que sugirió una acción diurética actuando como ahorradores de potasio.

Conclusión: Se comprobó la acción diurética de los extractos acuosos y etanólico de *P. acutifolius*.

- **Ramírez Jorge Hernán, Palacios Mauricio, Gutiérrez Oscar; Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas – Colombia. Tesis, 2006.**

Objetivos. Determinar el efecto de diuresis y concentración de electrolitos de *S. scutellarioides* utilizando un modelo en ratas.

Métodos. Veinticuatro ratas Sprague-Dawley machos fueron repartidas al azar en cuatro grupos homogéneos: el grupo 1 recibió solución salina normal; el grupo 2, furosemida (10 mg/Kg), y los grupos 3 y 4, *S. scutellarioides* (1 g/Kg y 2 g/Kg, respectivamente). Todos los tratamientos se administraron en un volumen de 25 ml/Kg de peso del animal. Las ratas se colocaron en una jaula durante seis horas, y se cuantificó la excreción urinaria y los electrolitos en orina.

Resultados. La administración de *S. scutellarioides* en dosis de 1 y 2 g/Kg produjo un aumento significativo de la diuresis comparado con la del grupo control ($p < 0,01$). El efecto diurético se manifestó principalmente a partir de la cuarta hora de administración de *S. scutellarioides*. La administración de *S. scutellarioides* en ambas dosis produjo un incremento en la excreción urinaria de potasio y cloro.

Conclusiones. El estudio corrobora la aparente actividad diurética de *S. scutellarioides* reportada por médicos tradicionales, lo que podría explicar su posible efecto antihipertensivo.

- **Daud Thoene Adriana, Habib Intersimone Natalia y Sánchez Riera Alicia; Actividad Diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa) – Cuba. Revista de plantas medicinales, 2007.**

Objetivo: Realizar un estudio experimental en ratas Wistar con el fin de analizar la actividad diurética de extractos acuosos de hojas y corteza de queñoa, *Polylepis australis* Bitter, administrados por vía oral.

Método: Se utilizaron 36 ratas, machos, de la línea Wistar con un peso corporal entre 190 - 240 g. Fueron privados de agua 18 H antes del experimento, teniendo libre acceso a la alimentación. Cada una de las ratas fue administrada oralmente con 5 mL de solución fisiológica (NaCl 0,9%) para imponer un nivel salino uniforme. Treinta minutos después los animales fueron separados aleatoriamente en 6 grupos ($n = 6$) y tratados oralmente de la siguiente manera: Grupo I: agua destilada (control negativo), Grupo II

y III: 200 y 400 mg/Kg de solución acuosa del extracto de hojas de *Polylepis australis*, Grupo IV y V: 200 y 400 mg/Kg de solución acuosa del extracto de corteza de *Polylepis australis* y Grupo VI: furosemida en dosis de 20 mg/Kg de peso (control positivo), luego fueron colocados de forma individual en jaulas para colectar la orina por 24 h, así como las concentraciones de Na⁺, K⁺, Cl⁻ excretados en el volumen final.

Resultados: Se demostró el efecto diurético de los extractos en las dosis de 200 y 400 mg/Kg presentando mayor actividad diurética frente al grupo control y a la furosemida (20 mg/Kg). Se analizó la relación Na⁺/K⁺ y se observó un incremento frente al control negativo e inferior frente al diurético de referencia, lo que sugeriría que los extractos acuosos de hojas y corteza de queñoa podrían actuar como diuréticos tiazidicos, los cuales aumentan los niveles urinarios de K⁺ alternado la relación Na⁺/K⁺. Los resultados validarían el uso popular de hojas y corteza de queñoa como antihipertensivo como consecuencia de su actividad diurética.

Conclusión: Los extractos acuosos de hojas y corteza de queñoa, *Polylepis australis* Bitter presentan efecto diurético.

- **Pérez Machín Maykel, Sueiro Oyarzun Mario, Boffill Cárdenas María de los Ángeles, Morón Rodríguez Francisco J., Marrero Faz Evangelina; Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética – Cuba. Revista de investigaciones biomédicas, 2011.**

Objetivo: Proporcionar un modelo farmacológico in vivo para determinar la actividad diurética de plantas medicinales.

Método: Se prepararon extractos acuosos a partir de la droga seca de ocho plantas con actividad diurética atribuida por la medicina tradicional cubana, pero que carecían de validación experimental. Se distribuyeron al azar 88 ratas machos Sprague - Dawley a razón de 8 animales por grupo: controles positivos (furosemida 20mg/Kg e hidroclorotiazida 10 mg/Kg); control negativo (cloruro de sodio 0,9%) y ocho grupos tratados con extractos acuosos de plantas que se administraron por vía oral a dosis de 400 mg/Kg. La dosis fue completada con solución salina fisiológica con un volumen de administración constante de 40 ml/Kg de peso vivo. Las ratas se colocaron en jaulas y se midieron los volúmenes de orina excretados a las ½, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas post administración y las concentraciones de electrolitos (Na⁺ y K⁺) en la orina total colectada a las 24 horas.

Resultados: Se observó que todos los grupos tratados incrementaron el volumen de orina en relación con el grupo control negativo. La excreción urinaria y actividad diurética fueron mayores en los grupos experimentales: *Persea americana miller* (similar a la furosemida) y *Cassia alata L*, *Zanthoxylum fagara L*. (similar a las tiazidas)

Conclusión: Las especies: *Persea americana miller* y *Cassia alata L*, *Zanthoxylum fagara L*. presentan actividad diurética.

- **Martínez Martín Sara María, Jiménez Martínez María del Carmen, Del Río Brito Sarai, Pérez de Alejo José Luis, Maceira Cubiles María Acelia, Morales Rodríguez Zuraima, Curi Hernández María de los Ángeles; Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia L.*) en un modelo experimental en ratas–Cuba. Revista de plantas medicinales, 2012.**

Objetivo: Evaluar la actividad diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia L.*).

Método: Se utilizaron 40 ratas wistar macho, de peso corporal promedio entre 220 y 260 g, repartidas al azar en 5 grupos homogéneos. A los grupos I, II y III se le administró Noni-C a las dosis de 100, 200 y 400 mg/Kg de peso corporal respectivamente, el grupo IV fue tratado con furosemida (20 mg/Kg), mientras que al grupo V se le inoculó cloruro de sodio 0,9 %. Posteriormente, las ratas se colocaron en jaulas individuales para recolectar la orina en 24 h, a la cual se le cuantificó Na⁺, K⁺ y Cl⁻ excretados en el volumen final.

Resultados: A las 24 h, los volúmenes de orina en las ratas tratadas con el Noni-C a la dosis de 200 y 400 mg/Kg fueron de 30,12 y 34,23 mL/24 h, respectivamente; similares a la orina excretada por el grupo que se le administró la furosemida (38,33 mL/24 h) (p< 0,05).

Conclusiones: El producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia L.*), mostró actividad diurética a las dosis de 200 y 400 mg/Kg por vía oral.

2.2. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.

2.2.1. ASPECTOS ETNOBOTÁNICOS DE LA ESPECIE EN ESTUDIO.

2.2.1.1. IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA.

TAXONOMÍA

DIVISIÓN:	Magnoliophyta (=Angiospermas)
CLASE:	Magnoliopsida: Tricolpados (Eudicotiledoneas)
SUBCLASE:	Rosidae
SÚPER ORDEN:	Rosanae
ORDEN:	Fabales
FAMILIA:	Fabaceae
GENERO:	Zornia
ESPECIE:	<i>Zornia diphylla</i> (L.) Pers.

Nombre científico: **Zornia Diphylla** (L.) Pers.

Nombre común: “Orko Runa Manayupa”, “Pantaymanayupa”,
“Qellomanayupa”

Fuente: Herbario Vargas (Cusco)

2.2.2. SINONIMIA DEL NOMBRE COMUN DE LA ESPECIE VEGETAL.

Zornia reticulata Sm., *Hedysarum conjugatum* Willd., *H. diphyllum* L., *Zornia conjugata* (Willd) Sm., *Z. diphylla* subsp. *Latifolia* (DC.) Benth, *Z. diphylla* var. *latifolia* (Pers.) Benth. *Z. latifolia* DC. *Zornia sericea* Moric.

2.2.3. USOS TRADICIONALES:

Estos usos fueron establecidos según la “Ficha de Información Etnobotánica – Etnofarmacológica” que fueron colectados de 30 pobladores de la localidad de Suyo – Quinuay, Distrito de Lares, Provincia de Calca en el Departamento de Cusco; cuyas edades estuvieron entre 30 – 50 años de edad.

La información colectada nos indica que la planta de mayor uso para afecciones renales en esta localidad es **Zornia diphylla** (Ork’o Runamanayupa), y que además se le atribuyen otros usos como depurativo y cicatrizante, en diferentes formas y dosis. Como se explica a continuación:

- **Diurético:** infusión de la parte aérea (hojas, tallos), tomar litro a litro y medio en ayunas.
- **Depurativo:** infusión de la planta (hojas, tallos y raíz), tomar una tasa de ayunas y antes de acostarse.
- **Cicatrizante:** moler la parte aérea de la planta y aplicar tres veces al día. (Anexo N° 2)

2.3. ASPECTOS ANATOMOFISIOLOGICOS DEL RIÑÓN.

2.3.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL RIÑÓN DE UNA RATA.

Los riñones son los órganos que filtran el plasma y los constituyentes plasmáticos de la sangre, y de este modo absorben selectivamente el agua y las sustancias útiles del filtrado y excretan finalmente el exceso y los productos de desecho del plasma. La mayoría de los animales domésticos tienen la forma un tanto parecida a un frijol.

Los riñones están situados en la parte dorsal de la cavidad abdominal. El borde medial del riñón, generalmente cóncavo, presenta con gran depresión, el hilo renal, por donde entran las arterias, nervios y salen las venas, linfáticos y el uréter.⁽¹⁰⁾

El riñón (meso o metanefro) del adulto es una estructura vascular muy compacta que contiene un enorme número de túbulos urinarios, separados

entre si por tejido conjuntivo. Los túbulos están tapizados por una sola capa de células glandulares y terminan ciegamente en una dilatación globular llamada capsula de Bowman.

El uréter es un tubo muscular por cuyo interior circula la orina desde la pelvis renal hasta la vejiga.

La vejiga urinaria es un órgano musculoso hueco de tamaño y posición variables en relación con el contenido de la orina. Al estar vacía y en contracción, es un órgano en forma de pera, con paredes gruesas, asentado en el fondo de la pelvis. ⁽¹⁰⁾

La uretra pélvica se extiende desde la vejiga hasta el arco isquiático

Generalizando un órgano excretor consta de tres partes, todas pares y situadas a lo largo de la pared dorsal del celoma:

- El pronefro (riñón anterior)
- El mesonefro (riñón medio)
- El metanefro (riñón posterior)

Cada uno de ellos provistos de un conducto, el pronefro, mesonefro y metanefro de abren en la cloaca.

El nefrón se define como la unidad estructural y funcional del riñón, y está compuesto de las siguientes partes:

- El glomérulo formado por la capsula de Bowman que es una terminación dilatada y ciega de un túbulo dispuesta alrededor del glomérulo al que cubre casi por completo, estos glomérulos son como manojos de capilares interpuestos en el trayecto de una arteriola.

A este conjunto de capsula de Bowman con glomérulo se le llama corpúsculo de Malpighi, punto de máxima filtración de la sangre, puesto que por el circula un volumen filtrado equivalente a unas 100 veces el volumen eliminado en forma de orina. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

En otras partes corresponden a:

- Túbulo contorneado proximal.
- Asa de Henle
 - Descendente
 - Transversal
 - Ascendente
- Túbulo contorneado distal
- Túbulos colectores de Behring

Los procesos que se llevan a cabo en el nefrón son los siguientes:

- Filtración sanguínea en el glomérulo.
- Reabsorción y secreción en los túbulos contorneados.
- Excreción urinaria. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

Procesos de formación y excreción de la orina.

En la formación de la orina entran en juego los siguientes procesos ocurren en el nefrón y son los siguientes:

- a) **Filtración glomerular:** este proceso ocurre debido a la competencia de dos fuerzas o presiones que están dentro del capilar y de otra que ocurre en la capsula de Bowman, las que en definitiva van a determinar el grado de filtración. Estas fuerzas que se presentan en el glomérulo son las siguientes:
- La que trata de expulsar el líquido del interior, o sea la presión sanguínea capilar, que proviene de la contracción cardiaca.
 - La presión osmótica dada por las proteínas plasmática, que al contrario de la anterior, trata de reabsorber líquidos en el capilar glomerular.
- La filtración se debe a que la primera presión es mayor que la segunda. Este proceso es selectivo en el sentido de que las células sanguíneas no se filtran, ni las proteínas plasmáticas, (en condiciones normales), pero si se filtran de los demás componentes sanguíneos como son: agua, sales, glucosa, ácidos grasos, aminoácidos etcétera.
- Una tercera fuerza o presión de tipo hidrostáticas se genera debido a que el líquido filtrado se acumula (en la capsula de Bowman). Esta fuerza se opone a la filtración, pero siempre es menor que la primera presión, por lo que habrá un proceso neto de la salida de líquido del capilar, hacia la capsula de Bowman. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾
- b) **Reabsorción tubular:** este proceso se da debido que la mayor parte de las sustancias son filtradas. En él se garantiza que las sustancias filtradas sean reincorporadas a la circulación sanguínea y no se pierden al ser excretadas en la orina.
- c) **Secreción tubular:** este proceso es el responsable de la acidificación de la orina por secreción de iones de hidrogeno (H^+). Este es cuantitativamente y cualitativamente inferior al de la reabsorción.
- El pH de la orina es de aproximadamente 7,4 y si por alguna razón se altera, entonces se aumenta o disminuyen la secreción de hidrogeniones para llevar el pH a la normalidad.
- d) **Excreción:** del trabajo de alrededor de 2 millones de nefrones (un millón por cada riñón aproximadamente) se forma 1mL de orina por minuto; lo cual hace un volumen cercano a 1,5 L en 24 horas.
- La orina gota a gota va formándose descendiende a través de los uréteres y llega a la vejiga, cuando esta se llena produce el deseo de la micción. El acto en si de la micción de da al estimularse los receptores nerviosos ubicados en las paredes de la vejiga mediante un arco reflejo, lo que produce la contracción del musculo liso de la vejiga y la orina es expulsada el exterior a través de un conducto denominado uretra. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

Regulación endocrina de la micción

La micción está regulada básicamente por 2 hormonas, a saber. La diurética (ADH) y la hormona aldosterona.

- 1°. **La hormona antidiurética (ADH):** es secretada por la neurohipófisis. Cuando esta hormona está circulando en sangre, aumenta la permeabilidad del túbulo renal y consecuentemente reabsorbe más agua, por lo que se presenta una diuresis disminuida o dicho en otras palabras, hay poca eliminación de orina.
- 2°. **La aldosterona:** llamada también la hormona conservadora de iones de sodio, es secretada por las células de las glándulas suprarrenales (o adrenal) en su región cortical. Esta hormona cuando actúa lo que hace es aumentar la reabsorción de iones de sodio, y secretar iones potasio (K^+).

Bomba sodio y potasio: este proceso se llama bombeo de sodio-potasio, ya que el ion sodio se reabsorbe por medio de un bombeo activo de la luz del túbulo renal hacia los capilares situados alrededor de ellos y retorna a la circulación general. Este proceso permite que se mantenga el equilibrio entre los componentes salinos del plasma. Dichos componentes se encuentran, unos en el líquido intercelular y otros, en el líquido extracelular, entre los cuales se debe mantener una neutralidad eléctrica: cationes y aniones lo que da como resultado la homeostasis del plasma. ^{(10) (11)}

2.4. DIURÉTICOS

Son medicamentos que favorecen la diuresis por su acción sobre el contenido y el volumen de la orina excretada.

Los diuréticos actúan fundamentalmente disminuyendo la reabsorción tubular de Na^+ , pero también pueden ejercer efectos sobre cationes (K^+ , H^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) así como aniones como (Cl^- , HCO_3^- y $H_2PO_4^-$) y el ácido úrico. Los diuréticos son fármacos muy útiles en numerosos procesos patológicos, como la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, la enfermedad crónica renal, el síndrome nefrótico y la cirrosis hepática. ⁽¹²⁾
⁽¹³⁾

Clasificación de drogas diuréticas

- I. Inhibidores de la reabsorción de sodio:
 - 1) Diuréticos tiazidicos (derivados de las benzotiazinas y congéneres)
 - Hidroclorotiazida
 - Clortalidona
 - Xipamida
 - Piretanida
 - Metolazona
 - Politiazida

- Bendroflumetizida
 - Hidroflumetiazida
- 2) Diuréticos de alta eficacia
- Furosemida
 - Bumetanida
 - Ácido etacrinico
 - Indapamida
- 3) Diuréticos ahorradores de potasio
- Amilorida
 - Triamtirene
 - Espironolactona
- II. Diuréticos osmóticos
- Manitol (manitol 15 – 20%)
 - Urea
- III. Diuréticos inhibidores de la anhidrasa carbónica
- Acetazolamida
 - Diclorfenamida
 - Etoxizolamida
 - Metazolamida
- IV. Diuréticos que incrementan el flujo sanguíneo renal
- Teofilina
 - Cafeína
 - Aminosometradina
- V. Otros diuréticos
- Sales acidificantes: cloruro de amonio, cloruro de calcio y nitrato de amonio.

2.4.1. DIURÉTICOS DE ALTA EFICACIA O DIURÉTICOS ASA.

Son fármacos que poseen una intensidad diurética mucho mayor que las Tiazidas, su acción comienza antes de los 30 minutos por vía oral, su duración es relativamente leve de 4-6 horas. Los fármacos de este grupo no comparten la misma estructura química. La furosemida y la Bumetanida son Sulfamoilbenzoatos; la Torasemida es un derivado de la sulfonilurea, y el ácido etacrinico es un derivado del ácido fenoxiacético. ^{(12) (13)}

2.4.1.1. Furosemina

a. Estructura química:

- Núcleo ácido antraquílico
- Grupo benceno sulfamilo.
- Grupo halogenado.
- Cadena lateral anillo furano.

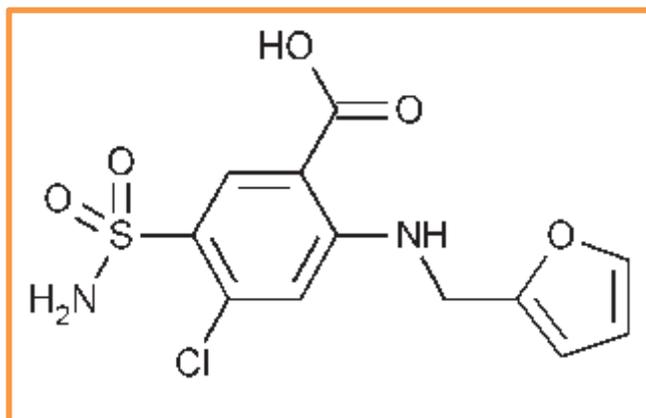


Gráfico 1: Estructura química de la furosemina.

Fuente: stabilis.org

<http://www.stabilis.org/Monographie.php?IdMolecule=62&IdOnglet=Incomp>

b. Mecanismo de acción y acciones farmacológicas

Los inhibidores del cotransportador de Na^+ - K^+ - 2Cl^- constituyen un grupo de diuréticos que tienen en común su capacidad para inhibir el cotransportador Na^+ , K^+ , 2Cl^- en la rama gruesa ascendente del asa de Henle. Por ello, este grupo de diuréticos también se conoce como diuréticos del asa. Estos fármacos alcanzan su lugar de acción en la membrana apical no solo por la filtración, sino también por secreción en la nefrona a través del mecanismo de secreción de ácidos orgánicos, presentes en el tubo proximal.

Los inhibidores del cotransportador Na^+ - K^+ - 2Cl^- se unen al cotransportador y bloquean su función. Como consecuencia, causan un aumento claro en la excreción de Na^+ y Cl^- (es decir por encima del 25% de la carga filtrada por Na^+). Al abolir la diferencia de potencial transepitelial, aumentan la excreción de Ca^{2+} y Mg^{2+} .

La furosemina también inhibe a la anhidrasa carbónica, pero esta acción es muy débil para ser importante. También aumenta el flujo sanguíneo renal, y el riego sanguíneo de la medula renal, pudiendo así interferir con el mecanismo multiplicador de contracorriente, que es necesaria para que la medula renal se hipertónica. De cualquier manera, estos diuréticos aumentan definitivamente la excreción de sodio (natriuresis), cloruro (clorureisis), potasio (kaliuresis) y agua; con mayor eliminación del anión cloruro que el catión sodio.

El exceso de cloruro se elimina con los iones potasio y amonio lo que implica la pérdida del ion hidrógeno, el cual se elimina en excesos en la orina. De esta forma puede producirse una alcalosis hipocloremica acompañada de hipokalemia, los efectos producidos no se modifican por la presencia de acidosis o alcalosis; por otra parte aumenta la excreción de calcio en forma paralela a la natriuresis.

La acción de la furosemida es rápida y de corta duración por vía oral, el efecto comienza a los 30- 60 minutos y es máximo a los 90 – 120 minutos y dura de 6 – 8 horas; por vía intravenosa la diuresis comienza a los 5 – 15 minutos, llega al máximo a los 30 – 60 minutos y dura de 3 – 5 horas. ⁽¹²⁾

c. Acciones farmacológicas y efectos adversos

El efecto diurético es usualmente muy intenso. El flujo urinario puede ser abundante (de hasta 10 litros en 24 horas). Esta poderosa droga puede ocasionar un desequilibrio hidroelectrolítico, que puede ser grave pero que debe vigilarse a los pacientes de cerca.

Como los diuréticos tiazidicos los diuréticos de alta eficacia, también incrementan la excreción de potasio, pudiendo ocasionar hipopotasemia, también pueden producir hiperuricemia por el mecanismo descrito para las Tiazidas. Aumentan la excreción de magnesio, y al contrario de las Tiazidas aumentan la eliminación de calcio (acción calciurica), que puede ser útil en pacientes con hipercalcemia asintomática. Los diuréticos de alta eficacia, pueden provocar ototoxicidad por cambios electrolíticos en la endolinfa del oído. El efecto adverso que puede provocar es hipoacusia y sordera. Por ello es peligrosa la administración conjunta con aminoglucósidos cuya acción ototóxica puede potenciarse. ^{(12) (13)}

d. Farmacocinética

Los diuréticos de alta eficacia se absorben rápidamente por vía oral, poseen una buena biodisponibilidad, y se unen ampliamente a proteínas plasmáticas. Se excretan activamente en el túbulo proximal, y por el fluido tubular llegan al sitio de acción en el asa de Henle. Se metabolizan parcialmente en el hígado, conjugándose con el ácido glucorónico. ^{(12) (13)}

e. Usos terapéuticos

- Tratamiento de edema pulmonar agudo.
- Tratamiento de insuficiencia cardiaca congestiva crónica
- Tratamiento de hipertensión arterial
- Tratamiento de edema y ascitis por cirrosis hepática. ^{(12) (13)}

2.5. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectroscopia de absorción implica la medida de la fracción de luz de una longitud de onda dada que pasa a través de una muestra. La muestra no emite luz por sí misma, por lo que se debe incluir una fuente de radiación.

La mayoría de las fuentes producen luz con longitudes de onda no deseadas además de la deseada. (La excepción de esta característica general está en las fuentes de radiofrecuencia y los láseres.) El paso de la luz a través de un monocromador o un filtro selecciona la longitud de onda para el análisis.

Para los análisis se hacen dos medidas de la cantidad de luz absorbida. En la primera se mide la cantidad de luz (a la longitud de onda elegida) que llega al transductor, cuando se coloca un blanco. Se denomina intensidad P_0 del blanco, es cuanto la concentración del material analizado es cero.

La medida final se obtiene comparando la medida de las muestras o los patrones de calibración con la medida del blanco. Se llama P a la intensidad que se mide con las muestras o con el estándar. La comparación que siempre se hace implica la relación P/P_0 , con ambas intensidades medidas en las mismas condiciones del instrumento: longitud de onda, geometría, etc. ⁽¹⁴⁾

Equipo

- a. **Espectrómetro de absorción atómica:** los instrumentos para espectroscopia de absorción atómica constan de una fuente de radiación, un soporte de muestra, un selector de longitud de onda, un detector y un procesador de señal y lectura. ⁽¹⁵⁾
- b. **Atomizadores:** la espectroscopia de absorción atómica requiere que los átomos del analito estén en fase gaseosa, los iones o átomos de la muestra deben de estar disueltos y vaporizados en una fuente de alta temperatura como una llama u horno de grafito. ⁽¹⁵⁾
- c. **Hornos de grafito:** Los hornos se utilizan principalmente para atomizar sólidos, lodos y disoluciones para medidas por absorción atómica. Un diseño frecuentemente utilizado consiste en un tubo de grafito con un diámetro interno de unos pocos milímetros. Debido a que el tubo del horno se calienta al hacer pasar una corriente eléctrica a través del grafito (que actúa como una resistencia) el método también se llama atomización electrotérmica. ⁽¹⁵⁾

Cada tipo de muestra requiere un programa de calentamiento diferente. Por ejemplo, si la muestra es una disolución o un lodo, el primer paso a tomar es calentarla hasta unos 100 °C para eliminar todo el disolvente. A veces es interesante calentar el horno a una temperatura intermedia más elevada (determinada empíricamente) para vaporizar algunos de los interferentes de la matriz. A este paso se lo denomina etapa de calcinación o pirólisis, y para que sea efectivo, el analito ha de estar presente en una forma térmicamente estable, para que no se pierda nada. A continuación se eleva la temperatura tan rápidamente como sea posible hasta la temperatura de atomización y la muestra se vaporiza en el camino óptico de la radiación. Es fundamental mantener el horno en una atmósfera inerte (como el argón) durante el período de calentamiento, para reducir al mínimo las reacciones químicas no deseadas con las partículas atomizadas del analito. Este tipo de atomización electrotérmica se utiliza ocasionalmente para generar plasmas para emisiones atómicas. ⁽¹⁵⁾

Es mucho más fácil reproducir resultados usando un atomizador de flama, porque sus largos tiempos de medición promedian y minimizan implícitamente las variaciones de la señal. El analizador de horno de grafito, tiene un cilindro hueco colocado de manera que la radiación de la fuente externa (una lámpara de cátodo hueco) pasa por el centro del cilindro. El interior del cilindro está recubierto con grafito pirolizado. Los electrodos que se encuentran en los bordes del cilindro se conectan a una fuente de poder de alta corriente y bajo voltaje, capaz de liberar 3.6 KW en las paredes del cilindro. Las muestras líquidas se introducen con una microjeringa a través de un orificio pequeño que se encuentra en la parte de arriba independientemente, con una rampa de temperatura y un tiempo de mantenimiento isotérmico disponibles para cada etapa. En el ciclo de secado, la muestra se calienta por 20-30 s a 110-125°C, para evaporar cualquier solvente o componente de la matriz que sea muy volátil. La muestra que queda después de esta etapa aparece como una mancha (o costra) insignificante en el interior del tubo o de la barra de grafito. El ciclo de calcinación (o carbonización) se hace a una temperatura intermedia, seleccionada para efectuar los procesos necesarios de volatilización de los componentes de la matriz con alto punto de ebullición y de pirólisis de los materiales en ella, tales como grasas y aceites que se fraccionarán y se carbonizarán. A menudo, esta etapa conduce al analito a un estado químico diferente. El problema obvio en esta etapa es la pérdida de analito si la temperatura de calcinación es demasiado alta o se mantiene por mucho tiempo. ⁽¹⁵⁾

En la etapa final se aplica la potencia óptima máxima para elevar la temperatura del horno hasta la temperatura de atomización seleccionada. Los restos del analito se volatilizan y se disocian en átomos libres, que son los responsables de la absorción observada. La señal transitoria producida por el breve período de absorción provoca la salida al registrador o a la microcomputadora con sistema de procesamiento de datos. Tanto el área del pico como su altura se han usado para determinar la concentración del analito. La temperatura precisa de trabajo y la duración de cada etapa del proceso electrotérmico deben ser cuidadosamente seleccionadas. La naturaleza del analito y la composición de la matriz de la muestra son los factores que más importan en la selección de estos parámetros. La evaporación del solvente en el ciclo de secado debe ser suave y llana para evitar pérdidas mecánicas por espumaje o por salpicaduras. El progreso de la etapa de secado puede ser observado por inspección de la señal de absorción sin corrección del fondo. Los vapores que escapan producen una curva suave, sin la apariencia de jorobas o picos, los cuales indican que la rapidez de calentamiento es demasiado grande. El ciclo de calcinación se sigue del mismo modo; usualmente no se pierde analito hasta que se alcanza una temperatura específica, entonces la señal del analito aparece en forma de pico agudo. La mayoría de los materiales orgánicos se pirolizan a 350°C aproximadamente, dejando un residuo de carbón amorfo. A esta temperatura, una corriente de aire o de oxígeno puede introducirse en el horno para convertir este residuo carbonoso en dióxido de carbono. ⁽¹⁵⁾

- d. Detectores e indicadores:** el sistema de detección puede estar diseñado con fotoceldas, fototubos, fotodiodos o fotomultiplicadores. Esto depende de los rangos de longitud de onda, la sensibilidad y de la velocidad de respuesta requeridas. El sistema de detección recibe la energía lumínica proveniente de la muestra y la convierte en una señal eléctrica proporcional a la energía recibida. La señal eléctrica puede ser procesada y amplificada, para que pueda interpretarse a través del sistema de lectura que una vez procesada es presentada al analista de diferentes maneras. ⁽¹⁵⁾
- e. Lámparas:** una vez que han se han individualizado los átomos, estos absorben radiación según la Ley de Beer si esta corresponde a la diferencia de energía entre los niveles energéticos de algunos de los átomos presentes, ya que los átomos de los diferentes elementos tienen líneas bien definidas que corresponden a transiciones entre diferentes niveles atómicos, estas transiciones tienen anchos espectrales de decimas o hasta centésimas de nanómetro, cada elemento va a corresponder a la excitación de una radiación de longitud de onda específica ya que solo este elemento absorbe o emite tal tipo de radiación, porque esta corresponde a la diferencia de energía entre dos niveles particulares de ese átomo. ⁽¹⁵⁾
- f. Lámpara de cátodo hueco:** Este tipo de fuente de radiación es de las ampliamente difundidas en la EAA. Las lámparas de cátodo hueco (LCH o HCL) consisten de un cilindro de vidrio sellado al vacío y con un gas inerte en su interior. Dentro de este mismo cilindro se encuentran dos filamentos; uno de ellos es el cátodo y el otro el ánodo. El ánodo generalmente es un alambre grueso hecho de níquel o tungsteno, el cátodo es en forma de un cilindro hueco, en el interior del cual se encuentra depositado en forma de una capa el elemento metálico que se va a excitar. También regularmente y cuando esto es posible el cátodo está enteramente hecho del metal a analizar. ⁽¹⁵⁾
- g. Lámpara de descarga sin electrodos:** Las fuentes de radiación de este tipo tienen la misma finalidad que las lámparas de cátodo hueco, solo que la forma de excitación de los átomos emisores de radiación es diferente. La lámpara de descarga sin electrodos se construye colocando una pequeña cantidad de una sal del elemento metálico (generalmente un yoduro), o el elemento metálico mismo si así es más conveniente, en un recipiente de cuarzo, el cual previamente se ha sometido al vacío antes de sellarse. Posteriormente, esta ampolla de cuarzo se coloca dentro de un cilindro de cerámica el cual está acoplado a un generador de radiofrecuencia. ⁽¹⁵⁾
- h. Lectura:** La mayoría de los instrumentos están equipados con un mecanismo de lectura digital. Instrumentos más modernos están equipados con microprocesadores y equipos independientes de control, capaces de integrar las señales de absorción en el tiempo y linealizar la curva de calibración en concentraciones altas. ⁽¹⁵⁾

- i. **Ventilación:** Lugar de un orificio de ventilación de 15 a 30 cm por encima del quemador para eliminar los humos y vapores de la llama.
 Esta precaución protege al personal de laboratorio de vapores tóxicos, protege el instrumento de vapores corrosivos, y evita la estabilidad de la llama se vean afectados por corrientes de aire ambiente.
 Un amortiguador o un soplador de velocidad variable es conveniente para el flujo de aire de modulación y la prevención de trastornos de llama. Seleccionar el tamaño del ventilador para proporcionar el flujo de aire recomendado por el fabricante del instrumento. ⁽¹⁶⁾

2.6. FLAVONOIDES.

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. ⁽¹⁷⁾

2.6.1. LOCALIZACIÓN Y ACCIÓN FISIOLÓGICA EN LAS PLANTAS.

Los flavonoides son importantes para el desarrollo normal de las plantas; estos se encuentran localizados en la membrana del tilacoide de los cloroplastos. Las funciones de los flavonoides en las plantas se pueden resumir en tres grupos: papel de defensa, papel de señal química y efecto sobre las enzimas.

Los flavonoides juegan un papel en la defensa de las plantas frente a agentes agresores externos. Entre estos agentes se puede mencionar la radiación UV de los rayos solares, los microorganismos tanto bacterias, como hongos e insectos y otros animales herbívoros, las otras plantas (efecto alelopático) y el entorno (medio ambiente agresivo).

Los flavonoides actúan como señales químicas o marcadores florales que sirven para guiar a las abejas y otros insectos polinizadores hacia el néctar, facilitando indirectamente la polinización. En algunos casos indican a los insectos que la planta que los contiene es apropiada para su alimentación, comportándose como estimulador del apetito y de la masticación de determinados insectos; en otros casos indica al insecto que la planta que los posee es un lugar apropiado para depositar sus huevos, por lo que los flavonoides actúan como estimuladores de la oviposición y también en algunos casos funcionan como señales para determinadas plantas parásitas, indicando que la planta que los posee es susceptible de ser invadida por la parásita. ^{(17) (18)}

2.6.2. ESTRUCTURA QUÍMICA.

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. ^{(17) (18)}

En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

- Flavanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
- Antocianidinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C. ^{(17) (18)}

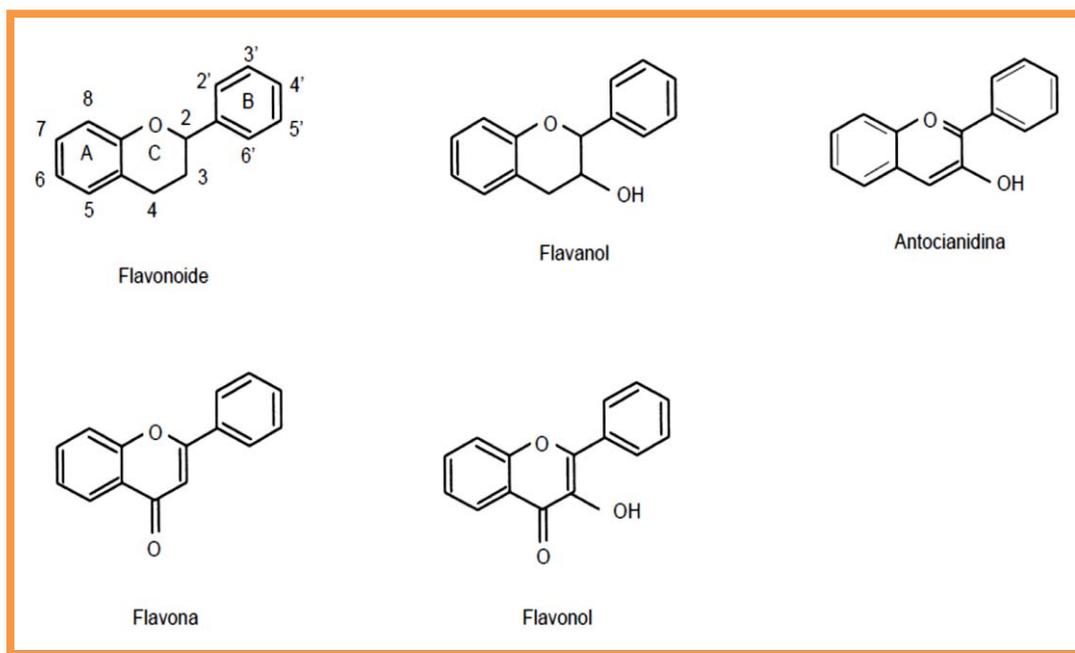


Gráfico 2: Flavonoides estructura base y sus tipos.

FUENTE: Martínez S, Gonzales J, Tuñón J. Nutrición Hospitalaria. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf> España.

2.7. MARCO CONCEPTUAL.

a. Diurético:

Los diuréticos son drogas con capacidad de incrementar el volumen de orina o la diuresis y disminuir el líquido excesivo del espacio extracelular. ⁽¹⁹⁾

b. Diurético ASA:

Diuréticos que actúan en la porción gruesa de la rama ascendente del asa de Henle, son diuréticos de máxima eficacia. ⁽¹⁹⁾

c. Diurético tiazidico:

Las tiazidas producen una diuresis moderada, que provoca la excreción del 5-10% de la excreción del sodio filtrado. Las tiazidas actúan en la porción inicial del tubo distal. ⁽²⁰⁾

d. Hipertensión arterial:

Se entiende por hipertensión arterial a la elevación sostenida de las presiones arteriales sistólicas, diastólicas o ambas, en cualquier grupo de edad y en ambos sexos. ⁽²¹⁾

e. Absorción atómica:

Se basa en la absorción de radiación por parte de átomos o iones elementales. Las regiones del espectro proporcionan información atómica en la luz ultravioleta visible, que es la zona donde se absorben los tomos o iones gaseosos de una muestra a analizar. ⁽²²⁾

f. Hipernatremia:

Se considera hipernatremia cuando el valor de sodio es mayor a 145 mEq/L, la hipernatremia indica un déficit de agua corporal dado por la administración de grandes cantidades de soluto como de solución salina hipertónica o bicarbonato de sodio, por insuficiente ingesta de agua o excesiva pérdida de agua. ⁽²³⁾

g. Hiponatremia:

Significa un valor de sodio plasmático menor a 135 mEq/L. condición en la cual los fluidos del cuerpo están excesivamente diluidos, y ocurre cuando la ingesta de agua libre de electrolitos supera la pérdida de agua libre. ⁽²³⁾

h. Hiperpotasemia:

Se entiende por hiperpotasemia a la concentración plasmática de potasio mayor de 5.5 mEq/L.

Puede producirse como consecuencia de un aumento en el contenido total de potasio corporal, o aparecer sin que este se modifique, por desplazamiento de potasio del espacio intracelular al extracelular. ⁽²⁴⁾

i. Hipopotasemia:

Se entiende por hipopotasemia la disminución de las concentraciones de potasio plasmático por debajo de 3.5 mEq/L.

Puede producirse como consecuencia del desplazamiento de potasio al interior de la célula, sin cambios en el contenido total e el organismo, o por una pérdida neta de potasio. ⁽²⁴⁾

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO.

3.1.1. MATERIAL VEGETAL.

- Hojas, tallo y flores de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) (anexo 1)

3.1.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

- Ratas albinas adultas macho de la especie *Wistar novergicus*, con un peso promedio de 80 -120 gr. y de 2 – 3 meses de edad.

3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO.

3.2.1. MATERIALES DE CAMPO.

- Tijeras de podar
- Bolsas de polietileno
- Papel periódico
- Cuaderno de anotaciones

3.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO.

- Tubos de ensayo de 10, 15 y 20 mL
- Vasos precipitados de 100,200 mL.
- Matraz de Erlenmeyer de 50, 100 mL.
- Probetas de 25, 100 mL.
- Pipetas de 2, 5 y 10 mL.
- Placas Petri
- Baguetas
- Gradillas
- Embudos
- Papel filtro
- Goteros
- Pizetas
- Morteros

3.2.3. EQUIPOS DE LABORATORIO.

- Balanza DAKOTA 300g/ 0,01g.
- Baño maría.
- pH metro
- Estufa CETERIL MOD 2001
- Molino de granos GLONG 1690 RPM
- Espectrofotometro JASUGO V-630 BIO.

3.2.4. REACTIVOS DE SOLUBILIDAD E IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA

- Etanol al 70 ° y 96°
- Agua destilada
- Acetona
- Metanol
- Éter etílico
- Cloroformo
- Hexano
- Benceno
- Ácido clorhídrico al 1 % y 5%
- Ninhidrina al 1%
- Cloruro férrico al 1%
- Hidróxido de sodio al 1% y 5%
- Clorhidrato de hidroxilamina 0.5N
- Reactivo de Benedict
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Bouchart
- Reactivo de Mayer

3.2.5. DROGAS EMPLEADAS.

- Furosemida, comprimidos de 40 mg

3.2.6. OTROS MATERIALES.

- Cronómetro
- Jaulas con piso de malla metálica
- Sondas orogástricas para administración oral
- Jaulas metabólicas
- Recipientes de plástico

3.2.7. RECURSOS DE INFRAESTRUCTURA PARA EL ESTUDIO.

- Laboratorio de farmacodinamia de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Laboratorio de Química de la escuela profesional de Química de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

3.3. DISEÑO DE ESTUDIO.

3.3.1. TIPO DE ESTUDIO.

El estudio es comparativo – correlacional con diseño experimental de tipo cuasi experimental de tratamientos múltiples. ⁽²⁵⁾

- **Comparativo:** porque se compara el efecto diurético y la excreción de electrolitos (Na^+ , K^+ Cl^-) en orina producido por el extracto seco al 70% en diferentes concentraciones de ***Zornia diphylla*** (Ork'o Runamanayupa) comparado con el efecto diurético y excreción de electrolitos (Na^+ , K^+ Cl^-) producido por la furosemida en los grupos de experimentación. ⁽²⁵⁾

- **Correlacional:** porque mide el grado de relación entre la dosis, cantidad de flavonoides, el efecto diurético y la excreción de electrolitos de (Na⁺, K⁺ Cl⁻) en orina producido por los extractos hidroalcohólico seco al 70% y el extracto acuoso al 20% (p/v) de **Zornia diphylla** (Ork'oRunamanayupa) en los grupos de experimentación. ⁽²⁵⁾
- **Cuasi experimental:** porque el investigador controla la exposición y manipulación de variables independientes: extracto seco de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa); para determinar el efecto diurético y la excreción de electrolitos (Na⁺, K⁺ Cl⁻) en orina; además se utilizará la aleatorización como método de asignación. ⁽²⁶⁾

3.3.2. MUESTRA.

La muestra utilizada fueron los extractos hidroalcohólico seco al 70% y el extracto acuoso al 20% (p/v) de **Zornia diphylla** (Ork'oRunamanayupa).

3.4. CODIFICACIÓN DEL DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

3.4.1. EFECTO DIURÉTICO.

Para este estudio se elaboró un diseño con tratamientos múltiples utilizando varios grupos:

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO:

- G: grupo de sujetos: animales de experimentación (ratas albinas)
- X: tratamiento (extracto seco hidroalcohólico al 70%: variable independiente)
- O: observación de los sujetos
- X₀: fármaco patrón (Furosemida)
- --: sin tratamiento (solo agua)

G₁	--	O ₁	--	O ₂	--	O ₃	--	O ₄	--	O ₅
G₂	X ₀	O ₆	X ₀	O ₇	X ₀	O ₈	X ₀	O ₉	X ₀	O ₁₀
G₃	X ₁	O ₁₁	X ₂	O ₁₂	X ₃	O ₁₃	X ₄	O ₁₄	X ₅	O ₁₅
G₄	X ₆	O ₁₆	X ₇	O ₁₇	X ₈	O ₁₈	X ₉	O ₁₉	X ₁₀	O ₂₀
G₅	X ₁₁	O ₂₁	X ₁₂	O ₂₂	X ₁₃	O ₂₃	X ₁₄	O ₂₄	X ₁₅	O ₂₅
G₆	X ₁₆	O ₂₆	X ₁₇	O ₂₇	X ₁₈	O ₂₈	X ₁₉	O ₂₉	X ₂₀	O ₃₀

G₁ G₂ G₃ G₄ G₅ G₆: 5 ratas por grupo

O₁, O₂, O₃, O₄, O₅, O₆, O₇, O₈, O₉, O₁₀, O₁₁, O₁₂, O₁₃, O₁₄, O₁₅, O₁₆, O₁₇, O₁₈, O₁₉, O₂₀, O₂₁, O₂₂, O₂₃, O₂₄, O₂₅, O₂₆, O₂₇, O₂₈, O₂₉, O₃₀: porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU)

- X₀: 5mg/kg de Furosemida (comprimido) diluido en agua destilada.
- X₁, X₂, X₃, X₄, X₅: 100mg/Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.
- X₆, X₇, X₈, X₉, X₁₀: 200mg/Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.
- X₁₁, X₁₂, X₁₃, X₁₄, X₁₅: 300mg/Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.
- X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₁₉, X₂₀: 400mg/Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.

EXTRACTO ACUOSO:

- G: grupo de sujetos: animales de experimentación (ratas albinas)
- Y: tratamiento (decocción de la planta: variable independiente)
- O: observación de los sujetos
- X₀: fármaco patrón (furosemida)
- --: sin tratamiento (solo agua)

G₁	--	O ₁	--	O ₂	--	O ₃	--	O ₄	--	O ₅
G₂	X ₀	O ₆	X ₀	O ₇	X ₀	O ₈	X ₀	O ₉	X ₀	O ₁₀
G₃	Y ₁	O ₁₁	Y ₂	O ₁₂	Y ₃	O ₁₃	Y ₄	O ₁₄	Y ₅	O ₁₅
G₄	Y ₆	O ₁₆	Y ₇	O ₁₇	Y ₈	O ₁₈	Y ₉	O ₁₉	Y ₁₀	O ₂₀
G₅	Y ₁₁	O ₂₁	Y ₁₂	O ₂₂	Y ₁₃	O ₂₃	Y ₁₄	O ₂₄	Y ₁₅	O ₂₅
G₆	Y ₁₆	O ₂₆	Y ₁₇	O ₂₇	Y ₁₈	O ₂₈	Y ₁₉	O ₂₉	Y ₂₀	O ₃₀

G₁ G₂ G₃ G₄ G₅ G₆: 5 ratas por grupo

O₁, O₂, O₃, O₄, O₅, O₆, O₇, O₈, O₉, O₁₀, O₁₁, O₁₂, O₁₃, O₁₄, O₁₅, O₁₆, O₁₇, O₁₈, O₁₉, O₂₀, O₂₁, O₂₂, O₂₃, O₂₄, O₂₅, O₂₆, O₂₇, O₂₈, O₂₉, O₃₀: porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU)

- X₀: 5mg/kg de Furosemida (comprimido) diluido en agua destilada.
- Y₁, Y₂, Y₃, Y₄, Y₅: 100mg/Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.
- Y₆, Y₇, Y₈, Y₉, Y₁₀: 200mg/Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.
- Y₁₁, Y₁₂, Y₁₃, Y₁₄, Y₁₅: 300mg/Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.
- Y₁₆, Y₁₇, Y₁₈, Y₁₉, Y₂₀: 400mg/Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.

NOTA: Las dosis fueron tomadas con respecto a los trabajos siguientes:

- Arestegui I, Sanchez E. (2007) Comparación del efecto diurético de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Urtica magellanica* Poir (ortiga) y determinación de electrolitos excretados en orina (sodio, potasio y cloro) en ratas.
- Roberto Vargas Howell y Guido Ulate Montero (1995); Actividad diurética de la *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) en ratas albinas.

3.4.2. DETERMINACIÓN DE ELECTROLITOS EXCRETADOS EN ORINA (Na^+ , K^+ Y Cl^-)

Para este estudio se elaboró un diseño con tratamientos múltiples utilizando varios grupos:

EXTRACTO HIDROALCOHOLICO:

- G: grupo de sujetos: animales de experimentación (ratas albinas)
- X: tratamiento (extracto seco hidroalcohólico al 70%: variable independiente)
- O: observación de los sujetos
- X_0 : fármaco patrón (Furosemida)
- --: sin tratamiento (solo agua)

G₁	--	O ₁	--	O ₂	--	O ₃	--	O ₄	--	O ₅
G₂	X ₀	O ₆	X ₀	O ₇	X ₀	O ₈	X ₀	O ₉	X ₀	O ₁₀
G₃	X ₁	O ₁₁	X ₂	O ₁₂	X ₃	O ₁₃	X ₄	O ₁₄	X ₅	O ₁₅
G₄	X ₆	O ₁₆	X ₇	O ₁₇	X ₈	O ₁₈	X ₉	O ₁₉	X ₁₀	O ₂₀
G₅	X ₁₁	O ₂₁	X ₁₂	O ₂₂	X ₁₃	O ₂₃	X ₁₄	O ₂₄	X ₁₅	O ₂₅
G₆	X ₁₆	O ₂₆	X ₁₇	O ₂₇	X ₁₈	O ₂₈	X ₁₉	O ₂₉	X ₂₀	O ₃₀

G₁ G₂ G₃ G₄ G₅ G₆: 5 ratas por grupo

O₁, O₂, O₃, O₄, O₅, O₆, O₇, O₈, O₉, O₁₀, O₁₁, O₁₂, O₁₃, O₁₄, O₁₅, O₁₆, O₁₇, O₁₈, O₁₉, O₂₀, O₂₁, O₂₂, O₂₃, O₂₄, O₂₅, O₂₆, O₂₇, O₂₈, O₂₉, O₃₀: cantidad de electrolitos

- X₀: 5mg/ Kg de Furosemida (comprimido) diluido en agua destilada.
- X₁, X₂, X₃, X₄, X₅: 100mg/ Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.
- X₆, X₇, X₈, X₉, X₁₀: 200mg/ Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.
- X₁₁, X₁₂, X₁₃, X₁₄, X₁₅: 300mg/ Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.
- X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₁₉, X₂₀: 400mg/ Kg de extracto hidroalcohólico al 70% seco diluido en agua destilada.

EXTRACTO ACUOSO:

- G: grupo de sujetos: animales de experimentación (ratas albinas)
- Y: tratamiento (decocción de la planta: variable independiente)
- O: observación de los sujetos
- X₀: fármaco patrón (Furosemida)
- --: sin tratamiento (solo agua)

G₁	--	O ₁	--	O ₂	--	O ₃	--	O ₄	--	O ₅
G₂	X ₀	O ₆	X ₀	O ₇	X ₀	O ₈	X ₀	O ₉	X ₀	O ₁₀
G₃	Y ₁	O ₁₁	Y ₂	O ₁₂	Y ₃	O ₁₃	Y ₄	O ₁₄	Y ₅	O ₁₅
G₄	Y ₆	O ₁₆	Y ₇	O ₁₇	Y ₈	O ₁₈	Y ₉	O ₁₉	Y ₁₀	O ₂₀
G₅	Y ₁₁	O ₂₁	Y ₁₂	O ₂₂	Y ₁₃	O ₂₃	Y ₁₄	O ₂₄	Y ₁₅	O ₂₅
G₆	Y ₁₆	O ₂₆	Y ₁₇	O ₂₇	Y ₁₈	O ₂₈	Y ₁₉	O ₂₉	Y ₂₀	O ₃₀

G₁ G₂ G₃ G₄ G₅ G₆: 5 ratas por grupo

O₁, O₂, O₃, O₄, O₅, O₆, O₇, O₈, O₉, O₁₀, O₁₁, O₁₂, O₁₃, O₁₄, O₁₅, O₁₆, O₁₇, O₁₈, O₁₉, O₂₀, O₂₁, O₂₂, O₂₃, O₂₄, O₂₅, O₂₆, O₂₇, O₂₈, O₂₉, O₃₀: cantidad de electrolitos.

- X₀: 5mg/ Kg de Furosemida (comprimido) diluido en agua destilada.
- Y₁, Y₂, Y₃, Y₄, Y₅: 100mg/ Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.
- Y₆, Y₇, Y₈, Y₉, Y₁₀: 200mg/ Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.
- Y₁₁, Y₁₂, Y₁₃, Y₁₄, Y₁₅: 300mg/ Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.
- Y₁₆, Y₁₇, Y₁₈, Y₁₉, Y₂₀: 400mg/ Kg de la decocción de la planta seca en una concentración de 20%.

NOTA: Las dosis fueron tomadas con respecto a los trabajos siguientes:

- Arestegui I, Sanchez E. (2007) Comparación del efecto diurético de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Urtica magellanica* Poir (ortiga) y determinación de electrolitos excretados en orina (sodio, potasio y cloro) en ratas..
- Roberto Vargas Howell y Guido Ulate Montero (1995); Actividad diurética de la *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) en ratas albinas.

IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES IMPLICADAS	NATURALEZA DE LAS VARIABLES	MEDICION	INDICADOR	ESCALA	EXPRESION FINAL
VARIABLE INDEPENDIENTE	Extracto seco hidroalcohólico al 70% de la parte aérea de <i>Zornia diphylla</i> (Ork'o Runamanayupa)	Directa	Dosis / peso del animal de experimentación	De razón	mg/ Kg de peso
	Extracto seco acuoso al 20% de la parte aérea de <i>Zornia diphylla</i> (Ork'o Runamanayupa)	Directa	Dosis / peso del animal de experimentación	De razón	mg/ Kg de peso
VARIABLE DEPENDIENTE	Efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico y acuoso de la parte aérea de <i>Zornia diphylla</i> (Ork'o Runamanayupa)	Directa	• Volumen de excreción	De razón	mL de diuresis en 6 horas
			• Cuantificación de electrolito cloro.	De razón	mEq/L
			• Cuantificación de electrolito sodio.		
			• Cuantificación de electrolitos potasio.		
Cantidad de flavonoides totales	Directa	Miligramos de Quercetina/ gramo de extracto (muestra problema)	De razón	mg Q/ g mp	

Tabla 1: Operacionalización de las variables.

Fuente: Elaboración propia.

3.5. VARIABLES IMPLICADAS.

3.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE.

- Extracto seco de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

Definición conceptual:

Se define como aquella sustancia que se extrae con etanol al 70% o agua y que posee una composición química proporcionándole así una acción farmacológica útil en terapéutica y que no ha sufrido otro tratamiento que es necesario para su limpieza y desecación, con el fin que pueda conservarse correctamente. ⁽²⁷⁾

Definición operacional:

La dosis administrada del extracto seco de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) se midió en mg/ Kg de peso.

- Naturaleza: cuantitativa
- Medición: directa
- Escala: de razón
- Indicador: Dosis / peso del animal de experimentación
- Expresión final: mg/ Kg de peso.

3.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE.

- Efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico y acuoso de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

Definición conceptual:

Se define como efecto diurético a la capacidad de las drogas diuréticas de provocar un aumento de volumen de la orina excretada. ⁽²⁸⁾

Definición operacional:

El efecto diurético será medido mediante la recolección del volumen total de orina a las 6 horas luego de la administración del extracto seco de la parte aérea de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) a las diferentes dosis expresadas en porcentaje.

- Naturaleza: cuantitativa
- Medición: directa
- Escala: de razón
- Indicador: Volumen de excreción, cuantificación de electrolitos Na⁺, K⁺ y Cl⁻.
- Expresión final: ml de diuresis en 6 horas.

- Cantidad de flavonoides totales.

Definición conceptual:

Los flavonoides pertenecen a un grupo de compuestos naturales arreglados bajo un sistema C6-C3-C6, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que

pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. ⁽²⁹⁾

Definición operacional:

- Naturaleza: cuantitativa
- Medición: directa
- Escala: de razón
- Indicador: Flavonoides totales expresados en mg Q/ g mp
- Expresión final: flavonoides totales, expresados en mg Q/ g mp, miligramos de Quercetina por gramo de muestra problema (extracto seco de la planta).

3.6. VARIABLES NO IMPLICADAS.

3.6.1. VARIABLES INTERVINIENTES.

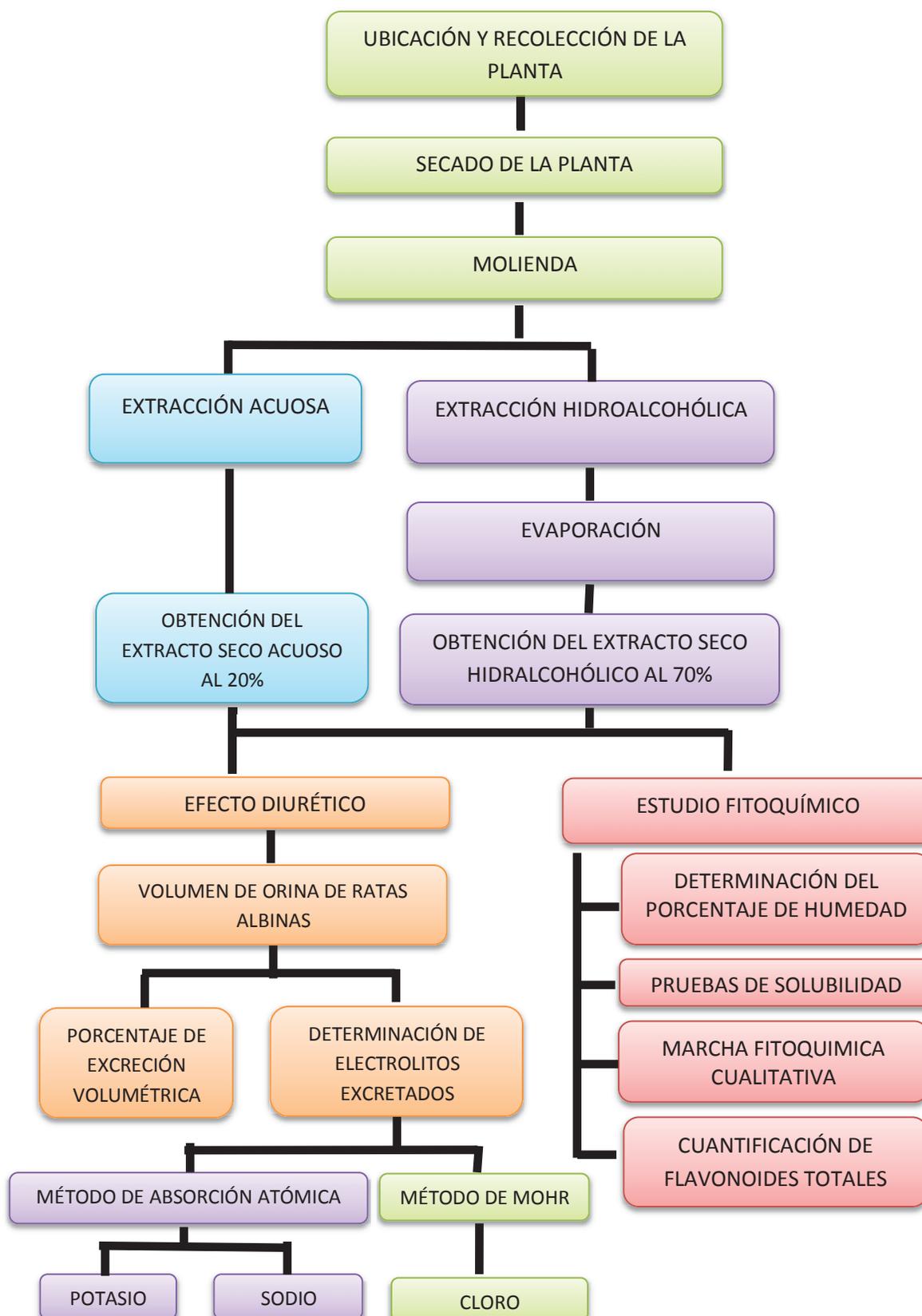
Al ser un estudio experimental donde se controlan las variables externas como las del ambiente y del observador, además de que se ha de usar un diseño cuasi experimental donde las diferencias individuales pasan a segundo plano, se tomaron en cuenta variables de los animales de experimentación (ratas albinas) y variables de la planta de estudio, para ubicar las unidades experimentales en su respectivo grupo tratando de hacerlos lo más homogéneo posible.

- De los animales de experimentación:
 - **EDAD**
Variable de sujeto cuya definición es el tiempo transcurrido desde el nacimiento de la unidad experimental hasta el momento de la experimentación.
 - **SEXO**
Variable de sujeto de escala nominal en macho y hembra.
 - **PESO**
Variable de sujeto que se define como la masa que presenta cada unidad experimental. ⁽³⁰⁾

- De la planta **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa):
 - **TEMPERATURA**
Variable en el proceso de secado de la planta que se define como la magnitud física que expresa el grado o nivel de calor de los cuerpos o del ambiente. ⁽³¹⁾
 - **HUMEDAD**
Variable de la especie vegetal en el proceso de secado que se define como agua que se impregna en la planta o vaporizada que se mezcla con el aire. ⁽³¹⁾

3.7. PROCEDIMIENTO.

3.7.1. FLUJOGRAMA DE LA INVESTIGACIÓN.



Fuente: Elaboración propia.

3.7.2. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

3.7.2.1. Recolección de la muestra vegetal.

La muestra vegetal *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) fue recolectada en la localidad de Suyo – Quinuay, Distrito de Lares de la Provincia de Calca en el Departamento del Cusco a una altura de 3215 m sobre el nivel del mar, en bolsas de polietileno agregándole etanol al 96% para evitar la degradación de los metabolitos secundarios.

3.7.2.2. Secado del material.

El material que fue colectado (parte aérea de la planta), para el análisis fue sometido a un proceso de secado en mallas de alambre en un área sombreada y ventilada y a temperatura ambiente (20°C aproximadamente) hasta obtener la muestra seca. Una vez seca la muestra se realizó la molienda en un molino de granos.

3.7.2.3. Determinación de la humedad.

La determinación de la humedad se realizó por triplicado en placas Petri con 5gr de muestra fresca (tallo y hojas), las mismas que fueron introducidas a la estufa a una temperatura de 40° C hasta obtener un peso constante para luego determinar el porcentaje de humedad mediante la siguiente relación. ⁽²⁷⁾

$$\%H = \frac{M1 - M2}{M1} X 100$$

Donde:

- %H = porcentaje de humedad
- M1 = peso de la muestra fresca
- M2 = peso de la muestra seca

3.7.2.4. Obtención de los extractos.

Para los ensayos del efecto farmacológico se preparó el extracto a partir del material biológico seco y molido.

- **Extracción en etanol al 70%**

Para el proceso de extracción hidroalcohólica se utilizó la muestra pulverizada la cual se sometió a maceración en etanol de 70%, luego se filtró cada semana hasta llegar al agotamiento. El filtrado se concentrará a sequedad en baño maría a 37° C. Para obtener así el extracto hidroalcohólico en el cual se realizaron los análisis fitoquímico, las pruebas farmacológicas.

El porcentaje de rendimiento se calculó con la siguiente relación. ⁽²⁷⁾

$$\% \text{ EEP} = \frac{PF \times 100}{PI}$$

Donde:

- **%EEP:** porcentaje de extracción de extracto seco
- **PI:** peso final (extracto seco)
- **PF:** peso inicial (muestra seca pulverizada)

Decocción de la droga seca: extracto acuoso

Se preparó la decocción de la droga seca con 20 gr en 100 mL (20% p/v) de agua destilada. Se hierve el agua en un recipiente tapado para evitar la evaporación excesiva, una vez comenzada la ebullición, se añade la droga fragmentada y se mantiene en ebullición durante cinco minutos, se separó del fuego, se deja enfriar durante 30 minutos, se filtra y luego se mide el volumen hasta completar el volumen inicial con agua destilada hervida. ⁽³²⁾

3.7.2.5. Pruebas de solubilidad.

Para realizar las pruebas de solubilidad se tomó una muestra representativa del extracto seco, hidroalcohólico de la planta en diferentes tubos de ensayo a los cuales se les agregó un mililitro de solvente, de diferente polaridad en forma descendente: agua destilada, metanol. Etanol al 96% y 70%, acetona, éter etílico, cloroformo, hexano y benceno. ⁽²⁷⁾

3.7.2.6. Análisis fitoquímico cualitativo.

Se realizó la marcha fitoquímica en el laboratorio de la E.P de Farmacia y Bioquímica de la UNSAAC.

Marcha Fitoquímica

Se utilizaron reacciones de coloración para la detección de metabolitos secundarios del extracto seco hidroalcohólico de la planta. ⁽²⁷⁾

REACTIVO	METABOLITO SECUNDARIO
FHELING	Azúcares reductores y glucósidos
NINHIDRINA	Aminoácidos
CLORURO FÉRRICO	Compuestos fenólicos
DRAGENDORFF, MAYER Y WAGNER	Alcaloides
HIDROXAMATO FÉRRICO	Lactonas
LIEBERMAN Y BOUCHARD	Esteroides
OTROS: ÍNDICE APROSIMÉTRICO	Saponinas

Tabla 2: Pruebas de análisis fitoquímico cualitativo.

Fuente: Villar del Fresno, 1999

3.7.3. ESTUDIO FARMACOLÓGICO.

3.7.3.1. Determinación del efecto diurético de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

METODO DE LIPSCHITZ

El método de **LIPSCHITZ** para determinar el efecto diurético de diversas sustancias se basa en la comparación de un fármaco patrón.

Para lo cual se realiza un bioensayo utilizando animales de experimentación y luego se realiza una curva dosis- acción con la cual se determina la actividad diurética de la sustancia en estudio por semejanza con la curva del fármaco patrón.

BIOENSAYO DE LA ACTIVIDAD DIURETICA: WERNER L. LIPSCHITZ, ZAREH HADIDIAN Y ANDREW KERPCSAR

- a) **Método ideado por LIPSCHITZ:** que utiliza las ratas blancas en ayuno para el bioensayo de actividad diurética de diversas sustancias. Probándose experimentalmente, estadísticamente y aplicado al estudio de varias sustancias, y que utiliza urea como diurético patrón.
- b) Se elaboró un curva dosis-acción (la curva dosis en m Mol/Kg de peso, que es interpolada con la curva de acción del diurético) de urea, con las sustancias se encontró que las líneas eran rectas de pendientes semejantes dentro de una serie de dosis parecidas. Las actividades diuréticas de las sustancias fueron calculadas por la división del volumen excretada entre el volumen de líquido administrado.

BIOENSAYO DE ACTIVIDAD DIURÉTICA MODIFICADA:

Este método utiliza como fármaco patrón a la furosemida por ser un diurético de alta eficacia. Para lo cual se realiza una curva dosis- acción de la furosemida como fármaco patrón y de la sustancia en estudio, en dicha curva se interpola la actividad diurética (EVU) y la dosis en mg/Kg de peso de la sustancia en estudio y la furosemida.⁽⁵⁾

1º. Preparación del patrón.

Se disuelve en agua destilada la cantidad necesaria de Furosemida para administrar una dosis de 5mg/ Kg.

2º. Descripción de la técnica para el extracto

El material biológico se distribuye en lotes de 5 animales de la siguiente forma:

- a) Grupo 1 (Grupo I): tratado únicamente con el vehículo (agua destilada)
- b) Grupo 2 (Grupo II): tratado con el fármaco patrón (furosemida)
- c) Grupo 3 (Grupo III): tratado con extracto de la planta a dosis 100mg/Kg.
- d) Grupo 4 (Grupo IV): tratado con extracto de la planta a dosis 200mg/Kg.
- e) Grupo 5 (Grupo V): tratado con extracto de la planta a dosis 300mg/Kg.
- f) Grupo 6 (Grupo VI): tratado con extracto de la planta a dosis 400mg/Kg.

3°. Administración

En todos los casos el extracto hidroalcohólico fue administrado por la vía oral mediante la cánula intragástrica a razón de 25 ml/ Kg de peso corporal.

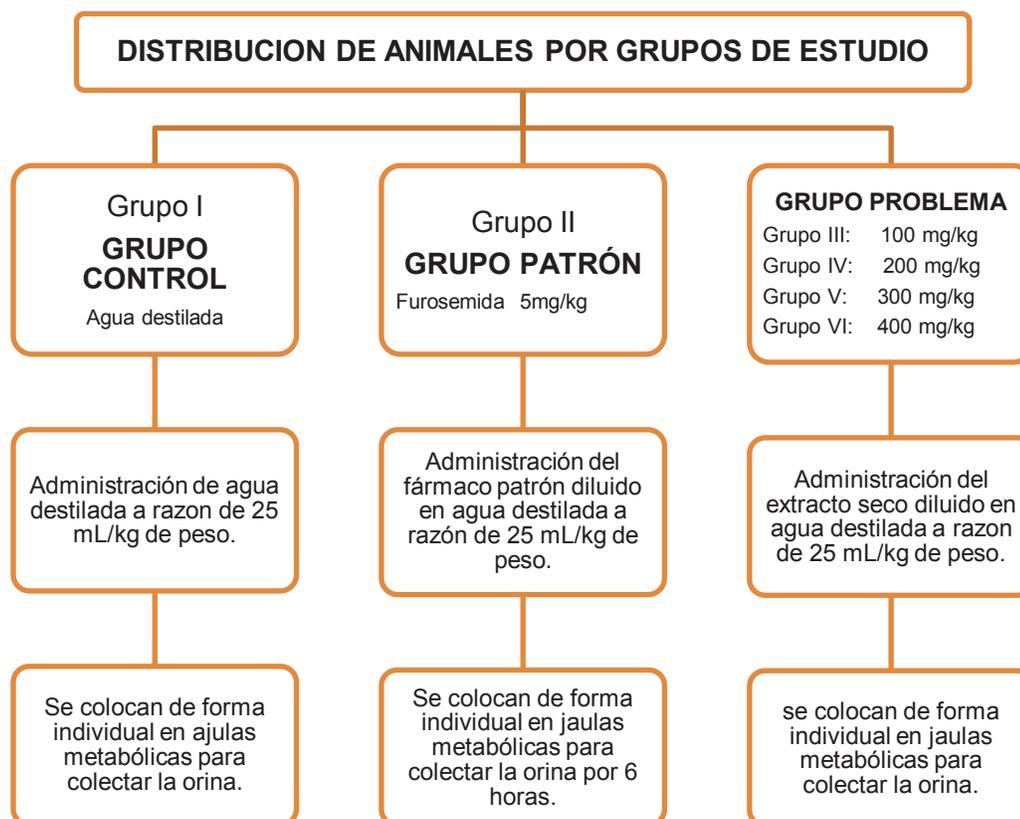
Todas las disoluciones se prepararon con agua destilada para igualar estos volúmenes.

Luego de la administración, los animales se colocaron de forma individual en jaulas metabólicas para colectar la orina.

Para evaluar la diuresis en ambos casos se utilizó 60 ratas, con un peso corporal entre 80 y 120 g. estos animales serán mantenidos en ayuna y privados del acceso al agua 18 horas antes del experimento, luego de haber permanecido durante una semana en proceso de climatización.⁽³³⁾

Climatización: Los animales fueron mantenidos durante 7 días en adaptación a las condiciones experimentales con una temperatura de 25 ± 1 °C, recibieron alimentación controlada y agua potable apta para consumo.

A. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO FARMACOLÓGICO PARA LOS EXTRACTOS ACUOSOS E HIDROALCOHÓLICOS



Fuente: Elaboración propia.

La acción diurética fue evaluada según el método de Lipschitz modificado en donde se registró el volumen de orina por hora y total a la sexta hora, así como las concentraciones de sodio (Na⁺) y Potasio (K⁺) excretados en el volumen final por medio del método de absorción atómica y cloro (Cl⁻) mediante titulación.

La excreción volumétrica urinaria (EVU) se expresaron en por cientos mediante la siguiente formula:

$$EVU = \frac{\text{Volumen de orina excretado}}{\text{volumen de liquido administrado}} \times 100$$

GRUPO	Nº DE ANIMALES	FARMACO / EXTRACTO	DOSIS
GRUPO 1 CONTROL	05	Agua destilada	25 ml/ Kg
GRUPO 2 PATRÓN	05	Furosemida	5 mg/ Kg
GRUPO 3	05	Extracto hidroalcohólico seco	100 mg/ Kg
GRUPO 4	05	Extracto hidroalcohólico seco	200 mg/ Kg
GRUPO 5	05	Extracto hidroalcohólico seco	300 mg/ Kg
GRUPO 6	05	Extracto hidroalcohólico seco	400 mg/ Kg

Tabla 3: Distribución de grupos para el estudio del efecto diurético en ratas albinas por vía oral del extracto hidroalcohólico.

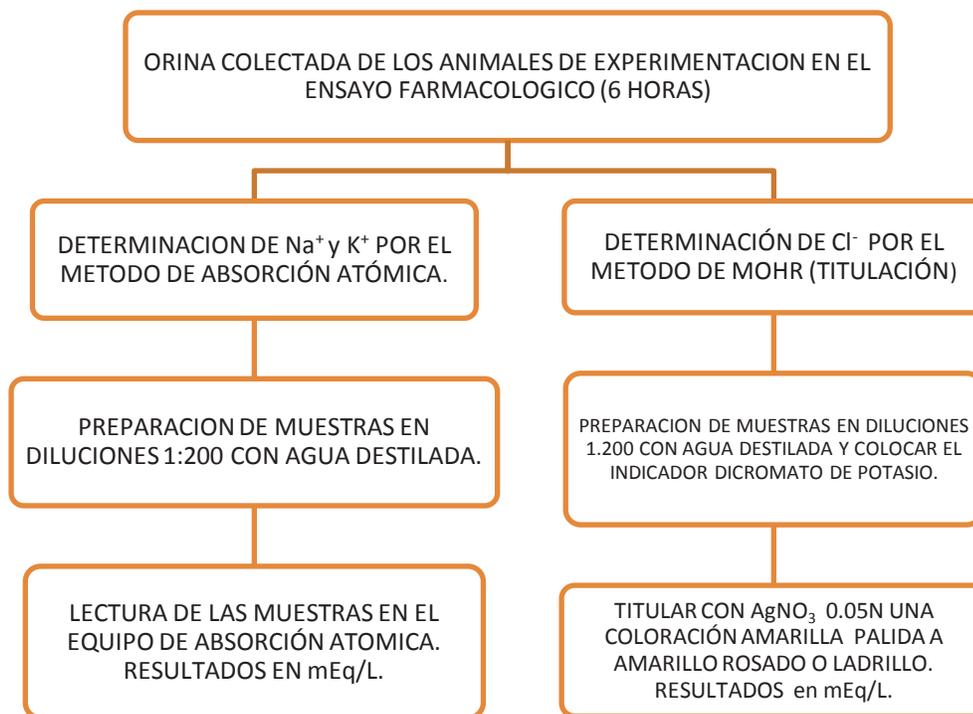
Fuente: Elaboración propia.

GRUPO	Nº DE ANIMALES	FARMACO / EXTRACTO	DOSIS
GRUPO 1 CONTROL	05	Agua destilada	25 ml/ Kg
GRUPO 2 PATRÓN	05	Furosemida	5 mg/ Kg
GRUPO 3	05	Extracto acuoso seco	100 mg/ Kg
GRUPO 4	05	Extracto acuoso seco	200 mg/ Kg
GRUPO 5	05	Extracto acuoso seco	300 mg/ Kg
GRUPO 6	05	Extracto acuoso seco	400 mg/ Kg

Tabla 4: Distribución de grupos para el estudio del efecto diurético en ratas albinas por vía oral del extracto acuoso

Fuente: Elaboración propia.

3.7.3.2. **Determinación de electrolitos excretados en orina.**



Fuente: Elaboración propia.

I. DETERMINACIÓN DE CLORUROS - TÉCNICA DE MOHR

Fundamento: la titulación es un método en el cual se agrega un volumen de solución estandarizada a una solución de conocida para determinar el titulo de algún componente de dicho problema. Las titulaciones por neutralización o titulaciones acido-base, son las más antiguas y se emplean ampliamente para determinar la concentración de analitos que son ácidos o bases, el agua es el disolvente común.

Cloruros: el ion cloruro (Cl⁻), es uno de los aniones inorgánicos principales en el agua natural y residual. Los contenidos de las aguas son variables y se deben principalmente a la naturaleza de los terrenos atravesados. Habitualmente, el contenido de ion cloruro de las aguas naturales es inferior a 50 mg/l.

Volumetrías de precipitación: El método se utiliza para determinar iones cloruro y bromuro. La valoración se realiza con solución patrón de AgNO₃. El indicador es el ion cromato CrO₄⁻, que comunica a la solución en el punto inicial una coloración amarilla y forma en el punto final un precipitado rojo ladrillo de dicromato de plata, Ag₂CrO₄. Las reacciones que ocurren en la determinación de iones cloruro son:



La solución debe de tener un pH neutro o cercano a la neutralidad. Un pH de 8.3 es adecuado para la determinación. La solución patrón de AgNO_3 s puede preparar por el método directo dado que el nitrato es un reactivo tipo primario; con el objeto de compensar los errores en la precipitación del punto final se prefiere el método indirecto y la solución se valora con NaCl químicamente puro. Cuando la solución tipo se prepara por el método indirecto no es necesario el ensayo en blanco, porque el exceso empleado en la valoración de la sustancia problema se compensa con el empleado en la valoración del AgNO_3 .⁽³⁴⁾

Procedimiento: (microtitulación)

- 1°. Preparar la muestra de orina 1.200 con agua destilada.
- 2°. En un frasco de 20mL colocar 1mL de muestra y agregar 2 gotas de cromato de potasio (indicador).
- 3°. Ajustar el pH de la solución entre 6.5 – 7.0 (ácido sulfúrico 0,001N)
- 4°. Cargar una jeringa de 1mL con AgNO_3 (nitrato de plata) 0.05N, hasta que la solución cambie de una coloración amarilla pálida a amarillo rosado o ladrillo.

II. DETERMINACION DE SODIO Y POTASIO – METODO DE ABSORCION ATÓMICA.

A. DETERMINACION DE POTASIO EN ORINA.

- Preparación de la solución testigo de potasio:
 - Solución madre: 0.5 mEq% de potasio en 100mL.
 - Solución testigo: diluir 1mL de solución madre a 20mL de agua bidestilada (dilución 1.20)
- Técnica:
 - 1°. Una vez conectado el fotómetro de llama, ajustados el gas y la presión, esperar 15 minutos para permitir la estabilización del amplificador.
 - 2°. Colocar la perilla en “k” y el filtro de potasio en su lugar correspondiente.
 - 3°. Ajustar el cero con agua destilada.
 - 4°. Colocar la cubeta con la solución testigo y llevar la aguja del microamperímetro a 50 de la escala con la perilla de sensibilidad.
 - 5°. Colocar la cubeta con la solución problema y leer la deflexión de la aguja en la escala.
 - 6°. Efectuar el cálculo de concentración como sigue:

$$mg \text{ de } k/100 \text{ mL de orina} = \frac{20 * L}{50}$$

Siendo:

L: lectura del problema.

20: concentración del testigo.

B. DETERMINACION DE SODIO EN ORINA.

- Preparación de la solución testigo.
 - Solución madre: 142 mEq% de potasio en 100mL.
 - Solución testigo: diluir 1mL de solución madre a 400mL de agua bidestilada (dilución 1.400)
- Técnica:
 - 1°. Preparando el aparato como para el potasio colocando la perilla en “Na” y el filtro para sodio en su lugar correspondiente, ajustar el cero con agua bidestilada.
 - 2°. Colocar la cubeta con la solución testigo y ajustar la aguja en el 50 de la escala con la perilla “sensibilidad”.
 - 3°. Sustituir el testigo con el problema y leer en la escala.
 - 4°. Efectuar el cálculo de concentración como sigue:

$$mg \text{ de Na}/100 \text{ mL de orina} = \frac{326 * L}{50}$$

Siendo:

L: lectura del problema.

326: concentración del testigo (326 mg de Na/100mL) ⁽³⁴⁾

C. ANALISIS DE LA RELACION SODIO POTASIO.

Se analizó la relación Na^+ /K^+ para las dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de peso de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y acuoso al 20% de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa) frente a la relación del blanco (agua) y el fármaco patrón (furosemida) respectivamente. ⁽³³⁾

3.7.3.3. Determinación cuantitativa de flavonoides totales por espectrofotometría UV.

La concentración de flavonoides se determinó siguiendo el método espectrofotométrico de Deutches Arzneibuch, cuantificación de flavonoides totales expresado como quercetina.

Para la preparación de la curva de calibración: Se utilizó una solución estándar de Quercetina 100µg/mL, de este se tomó volúmenes de 20µL a 100µL en intervalos de 20µL y se completó el volumen de cada uno a 960µL con metanol.

Para la determinación de flavonoides totales en muestra: Se preparó una solución con el extracto seco hidroalcohólico al 70% de la parte aérea de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa) 600µg/mL, de esta solución se tomó 50µL luego se completó a 960µL con metanol y Se preparó otra solución con el extracto seco acuoso al 20% de la parte aérea de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa) 600µg/mL, de esta solución se tomó 50µL luego se completó a 960µL con metanol.

A cada uno de los tubos estándares y muestras previamente preparados se le adiciono 40µL del reactivo de $AlCl_3$ al 2,5%, se mezcló y dejó en

reposo por 30 minutos. Finalmente se realizó la lectura de absorbancias a 425nm.

Los resultados son expresados en miligramos de Quercetina por gramo de extracto seco de la planta (mg Q/ g extracto).⁽⁸⁾

$$\text{Flavonoides } (\mu\text{gQ/ ug mp}) = Fc \times A \text{ mp/ Cmp}$$

$$\text{Flavonoides (mg Q/ g mp)} = (Fc \times A \text{ mp/ Cmp}) \times 1000$$

Siendo:

Fc = Factor de calibración (Cs/As= Concentración de Quercetina $\mu\text{g/mL}$ / Absorbancia del estándar Quercetina)

Amp = Absorbancia de muestra problema (extracto).

Cmp = Concentración de muestra problema (extracto en el tubo) $\mu\text{g/mL}$ ⁽⁸⁾

3.7.3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

A. Técnicas

- **Encuestas**, se utilizó para la recolección de la información sobre el uso de plantas medicinales de pobladores en la localidad de Suyo – Quinuay, Distrito de Lares de la Provincia de Calca.
- **Observación**, se utilizó en las pruebas cualitativas realizadas: para la solubilidad y para las pruebas realizadas en el análisis fitoquímico cualitativo de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa).

B. Instrumentos

- **Ficha de información etnobotánica – etnofarmacológica**; se utilizó para la recolección de la información sobre el uso de plantas medicinales de pobladores en la localidad de Suyo–Quinuay, Distrito de Lares de la Provincia de Calca (Anexo N° 2)
- **Ficha estructurada para la recolección de datos de las pruebas de solubilidad**; se utilizó para la recolección de datos en las pruebas realizadas para la solubilidad realizada en solventes polares, apolares y medianamente polares de ambos extractos seco hidroalcohólico y acuoso. (Anexo N° 3)
- **Fichas de recolección de datos análisis fitoquímico cualitativo**; se utilizó para la recolección de datos en las pruebas realizadas para el análisis fitoquímico cualitativo de ambos extractos seco hidroalcohólico y acuoso detallados en el **anexo N°4**. (Anexo N°5)

3.7.3.5. Análisis estadístico y procesamiento de datos.

Todos los datos serán obtenidos luego de la evaluación del efecto diurético y cuantificación de flavonoides, se procesaron con el paquete estadístico SPSS (stadistical package for socials sciences), versión 20 en español; utilizando Anova de un factor, pruebas post hoc de Tukey y prueba de los subconjuntos homogéneos, considerando el nivel de significación de 0,05, además se utilizó la prueba de T student en la determinación de la cantidad de flavonoides totales. Para realizar el informe se utilizó Microsoft office 2010 (Microsoft Word y Microsoft Excel).

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

4.1. ENSAYOS PRELIMINARES

4.1.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

A. Determinación del porcentaje de humedad de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa):

$$\%H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

Donde:

- %H = Porcentaje de humedad.
- M1 = Peso de la muestra fresca.
- M2 = Peso de la muestra seca.

PESOS	RESULTADO			PROMEDIO
M1	250 g	250 g	250 g	250 g
M2	178g	172 g	176g	175.33g
PORCENTAJE DE HUMEDAD	28.8%	31.2%	29.6	29.87%

Tabla 5: Determinación del porcentaje de humedad.

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la **tabla 5**, se muestra el porcentaje de humedad de la planta debido a que de este depende la adecuada conservación de las drogas, además es imprescindible realizar un buen proceso de secado para detener las reacciones enzimáticas que se llevan a cabo en medio húmedo; para evitar que se desarrollen microorganismos que puedan alterarlas y de este modo conservar en condiciones óptimas las cualidades farmacológicas de la especie en estudio.
(27)

Comparando el porcentaje de humedad (81.14%) obtenido en el trabajo de investigación de la especie *Urtica Magellanica* Jussieu ex Poret (ortiga), podemos decir que el contenido de agua en la especie estudiada es bastante bajo. (5)

4.1.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

$$\%EEP = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

- **%EEP** = Porcentaje de rendimiento
- **Pf** = Peso final (extracto)
- **Pi** = Peso inicial (muestra seca pulverizada)

A. Extracto hidroalcohólico Seco al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

PESOS	RESULTADO
Pi	700 g
Pf	95 g
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	13.57%

Tabla 6: Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

B. Extracto acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa):

PESOS	RESULTADO
Pi	500 g
Pf	72 g
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	14.4%

Tabla 7: Porcentaje de rendimiento del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la **tabla 6 y tabla 7**, se muestra el porcentaje de rendimiento de la planta, debido a que este nos ayuda en la obtención de la mayor cantidad de principio activo con los solventes utilizados, como son el etanol al 70% y agua.

Arrestegui (2007) reportó el porcentaje de rendimiento del extracto seco hidroalcohólico de *Urtica magellanica Jussieu ex Poiret* (ortiga) de 18.68%, que comparado con el obtenido en el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) en el cual se obtuvo un 13,57%, este fue relativamente bajo. ⁽⁵⁾

4.1.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

A. Extracto hidroalcohólico Seco al 70% y extracto acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa):

Al realizar las pruebas de solubilidad del Extracto hidroalcohólico Seco al 70% y extracto acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) se obtuvieron los siguientes resultados:

SOLVENTE	SOLUBILIDAD A TEMPERATURA AMBIENTE	
	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
HEXANO	-	-
CLOROFORMO	+	+
ACETONA	+	+
ACETATO DE ETILO	+	+
ETANOL 70%	++	+++
METANOL	++	+++
AGUA	+++	+++

Tabla 8: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

- (-) : No soluble
- (+) : Poco soluble
- (++) : Soluble
- (+++): Muy soluble

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la **tabla 8**, se muestra la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico y acuoso, para el cual se usaron solventes de polaridades crecientes tomándose como referencia para determinar la solubilidad los términos utilizados por la Farmacopea de los Estados Unidos USP 1995 - 2000.

De los resultados podemos concluir que el extracto hidroalcohólico seco al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) es altamente soluble en solventes polares como el agua, medianamente soluble en solventes poco polares y no soluble en solventes apolares como el hexano.

De los resultados podemos concluir que el extracto acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) es altamente soluble en solventes polares como el agua, metanol y etanol al 70%, medianamente soluble en solventes poco polares y no soluble en solventes apolares como el hexano. Comparando el extracto hidroalcohólico seco al 70% y el extracto acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa) se observó que el extracto acuoso al 20% es totalmente soluble en solventes polares.

4.1.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

A. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico Seco al 70% y extracto acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa):

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVOS	CANTIDAD DE METABOLITO SECUNDARIO	
		EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Azúcares reductores	Benedict	---	---
Flavonoides	Shinoda	++	+++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico al 1%	+	++
Quinonas	Ácido sulfúrico (c)	+	++
Alcaloides	Bouchardat	+++	+++
Alcaloides	Mayer	+++	+++
Alcaloides	Dragendorff	+++	+++
Taninos	Cloruro férrico al 1%	+++	+++
Saponinas	Prueba de espuma	++	++
Antocianinas	Ácido clorhídrico	---	---
Leucoantocianinas	Ácido clorhídrico (c)	++	+++

Tabla 9: Análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

- +++ Abundante cantidad
- ++ Regular cantidad
- + Escasa cantidad
- Negativo

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la **tabla 9**, se muestra el análisis fitoquímico preliminar del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), se determinó la presencia de:

- Regular cantidad de flavonoides, el que fue identificada mediante la reacción de Shinoda, la que presentó una coloración rojiza tendiente al amarillo lo que nos indica la presencia de flavonoides. ⁽²⁷⁾
- Abundante cantidad de alcaloides, la que fue identificada por la reacción de Dragendorff, Mayer y Bouchardat que presentó un precipitado castaño rojizo, blanco amarillento y rojo ladrillo respectivamente lo que nos indica la presencia de alcaloides. ⁽²⁷⁾
- Abundante cantidad de taninos, la que fue identificada por la reacción del cloruro férrico al 1%, la que presentó una coloración verde lo que nos indica la presencia de taninos. ⁽²⁷⁾
- Regular cantidad de saponinas, la que fue identificada por la prueba de espuma, la que después de agitar hay formación de espuma persistente. ⁽²⁷⁾

- Regular cantidad de leucoantocianinas, el que fue identificada en presencia de ácido clorhídrico concentrado, que presentó una coloración rojo lo que nos indica la presencia de leucoantocianinas. ⁽²⁷⁾
- Escasa cantidad de compuestos fenólicos, los que se identificaron por reacción del cloruro férrico al 1%, la que presento precipitados azuladas lo que nos indica la presencia de compuestos fenólicos. ⁽²⁷⁾
- Escasa cantidad de quinonas, los que se identificaron en presencia de ácido sulfúrico concentrado, que presentó coloraciones rojizas el que nos indica la presencia de quinonas. ⁽²⁷⁾
- No se evidencio la presencia de azúcares reductores y antocianinas, con estos resultados se contribuye el conocimiento fitoquímico cualitativo de esta especie.

En el análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa) se determinó la presencia de:

- Abundante cantidad de flavonoides, el que fue identificada mediante la reacción de Shinoda, la que presentó una coloración rojiza tendiente al amarillo lo que nos indica la presencia de flavonoides. ⁽²⁷⁾
- Abundante cantidad de alcaloides, la que fue identificada por la reacción de Dragendorff, Mayer y Bourchardat que presentó un precipitado castaño rojizo, blanco amarillento y rojo ladrillo respectivamente lo que nos indica la presencia de alcaloides. ⁽²⁷⁾
- Abundante cantidad de taninos, la que fue identificada por la reacción del cloruro férrico al 1%, la que presento una coloración verde lo que nos indica la presencia de taninos. ⁽²⁷⁾
- Abundante cantidad de leucoantocianinas, el que fue identificada en presencia de ácido clorhídrico concentrado, que presentó una coloración rojo lo que nos indica la presencia de leucoantocianinas. ⁽²⁷⁾
- Regular cantidad de compuestos fenólicos, los que se identificaron por reacción del cloruro férrico al 1%, la que presento precipitados azuladas lo que nos indica la presencia de compuestos fenólicos. ⁽²⁷⁾
- Regular cantidad de quinonas, los que se identificaron en presencia de ácido sulfúrico concentrado, que presentó coloraciones rojizas el que nos indica la presencia de quinonas. ⁽²⁷⁾
- Regular cantidad de saponinas, la que fue identificada por la prueba de espuma, la que después de agitar hay formación de espuma persistente. ⁽²⁷⁾
- No se evidencio la presencia de azúcares reductores y antocianinas, con estos resultados se contribuye el conocimiento fitoquímico cualitativo de esta especie.

Comparando el extracto hidroalcohólico al 70% y el extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla** (Ork'o Runamanayupa); el extracto acuoso presenta abundante cantidad de flavonoides a los cuales se atribuyen propiedades: diurética, antialérgica, antimicótica, antiagregante plaquetario. ⁽¹⁷⁾

Además, en ambos análisis fitoquímico se observó la presencia de cantidad abundante de alcaloides que según bibliografía en su mayoría son hepatotóxicos, la cuales una información relevante para posteriores investigaciones.⁽³⁶⁾

La abundante cantidad de alcaloides obtenidos en la identificación fitoquímica cualitativa es muy importante para posteriores estudios ya que probablemente también estos derivados principalmente derivados de la metilxantina y teofilina son alcaloides responsables de las propiedades diuréticas.

4.2. PRUEBAS DEL EFECTO DIURÉTICO.

4.2.1. PERIODO DE LATENCIA

Periodo de latencia del extracto hidroalcohólico y acuoso

TRATAMIENTO	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (min)	EXTRACTO ACUOSO (min)
Blanco	50	50
Furosemida 5mg/ Kg	33	33
100 mg/ Kg	31	29
200 mg/ Kg	30	29
300 mg/ Kg	29	28
400 mg/ Kg	30	30

Tabla 10: Periodo de latencia del extractos hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 10**, podemos observar que el periodo de latencia para el extracto hidroalcohólico va de 29 a 31 minutos al realizar el ensayo en los animales de experimentación, mientras que el periodo de latencia para el extracto acuoso oscila entre 28 y 30 minutos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PERIODO DE LATENCIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación del periodo de latencia con las diferentes dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	1616,000	5	323,200	289,433	,000
DENTRO DE GRUPOS	26,800	24	1,117		
TOTAL	1642,800	29			

Tabla 11: Anova del periodo de latencia extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 11**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en el periodo de latencia. La tabla nos muestra el nivel de significancia $p = 0,000$ el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes tiempos de latencia.

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple del periodo de latencia con el extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa).

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	17,20000	,000	15,1336	19,2664
	DOSIS 100mgKg	19,00000	,000	16,9336	21,0664
	DOSIS 200mgKg	20,00000	,000	17,9336	22,0664
	DOSIS 300mgKg	21,00000	,000	18,9336	23,0664
	DOSIS 400mgKg	20,00000	,000	17,9336	22,0664
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-17,20000	,000	-19,2664	-15,1336
	DOSIS 100mgKg	1,80000	,114	-,2664	3,8664
	DOSIS 200mgKg	2,80000	,004	,7336	4,8664
	DOSIS 300mgKg	3,80000	,000	1,7336	5,8664
	DOSIS 400mgKg	2,80000	,004	,7336	4,8664
DOSIS 100mgKg	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-19,00000	,000	-21,0664	-16,9336
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-1,80000	,114	-3,8664	,2664
	DOSIS 200mgKg	1,00000	,670	-1,0664	3,0664
	DOSIS 300mgKg	2,00000	,062	-,0664	4,0664
	DOSIS 400mgKg	1,00000	,670	-1,0664	3,0664
DOSIS 200mgKg	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-20,00000	,000	-22,0664	-17,9336
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-2,80000	,004	-4,8664	-,7336
	DOSIS 100mgKg	-1,00000	,670	-3,0664	1,0664
	DOSIS 300mgKg	1,00000	,670	-1,0664	3,0664
	DOSIS 400mgKg	,00000	1,000	-2,0664	2,0664
DOSIS 300mgKg	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-21,00000	,000	-23,0664	-18,9336
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-3,80000	,000	-5,8664	-1,7336
	DOSIS 100mgKg	-2,00000	,062	-4,0664	,0664
	DOSIS 200mgKg	-1,00000	,670	-3,0664	1,0664
	DOSIS 400mgKg	-1,00000	,670	-3,0664	1,0664
DOSIS 400mgKg	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-20,00000	,000	-22,0664	-17,9336
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	-2,80000	,004	-4,8664	-,7336
	DOSIS 100mgKg	-1,00000	,670	-3,0664	1,0664
	DOSIS 200mgKg	,00000	1,000	-2,0664	2,0664
	DOSIS 300mgKg	1,00000	,670	-1,0664	3,0664

Tabla 12: Prueba post Hoc o de Tukey del periodo de latencia del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 12**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples del periodo de latencia y el extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del patrón con las dosis administradas de 200, 300 y 400 mg/Kg exceptuando las dosis de 100mg/Kg, afirmación que se corrobora con el nivel de significancia $p < 0,05$.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos del periodo de latencia y extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05		
		1	2	3
DOSIS 300mgKg	5	29,0000		
DOSIS 200mgKg	5	30,0000		
DOSIS 400mgKg	5	30,0000		
DOSIS 100mgKg	5	31,0000	31,0000	
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	5		32,8000	
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	5			50,0000

Tabla 13: Prueba de subconjuntos homogéneos del periodo de latencia del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 13**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados del periodo de latencia divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen tres subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 1 está formado por los promedios de los periodos de latencia de las dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/kg de peso; el subconjunto 2 formado por la dosis de 100 mg/kg de peso y la furosemda; los q nos muestra que los grupos de cada subconjunto tienen similar periodo de latencia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PERIODO DE LATENCIA DEL EXTRACTO ACUOSO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación del periodo de latencia con las diferentes dosis del extracto seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	1774,667	5	354,933	507,048	,000
DENTRO DE GRUPOS	16,800	24	,700		
TOTAL	1791,467	29			

Tabla 14: Anova del periodo de latencia extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 14**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en el periodo de latencia. La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes tiempos de latencia.

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple del periodo de latencia con el extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	17,20000	,000	15,5639	18,8361
	DOSIS 100mgKg	21,00000	,000	19,3639	22,6361
	DOSIS 200mgKg	21,00000	,000	19,3639	22,6361
	DOSIS 300mgKg	22,00000	,000	20,3639	23,6361
	DOSIS 400mgKg	20,00000	,000	18,3639	21,6361
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	-17,20000	,000	-18,8361	-15,5639
	DOSIS 100mgKg	3,80000	,000	2,1639	5,4361
	DOSIS 200mgKg	3,80000	,000	2,1639	5,4361
	DOSIS 300mgKg	4,80000	,000	3,1639	6,4361
	DOSIS 400mgKg	2,80000	,000	1,1639	4,4361
DOSIS 100mgKg	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	-21,00000	,000	-22,6361	-19,3639
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	-3,80000	,000	-5,4361	-2,1639
	DOSIS 200mgKg	,00000	1,000	-1,6361	1,6361
	DOSIS 300mgKg	1,00000	,432	-,6361	2,6361
	DOSIS 400mgKg	-1,00000	,432	-2,6361	,6361
DOSIS 200mgKg	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	-21,00000	,000	-22,6361	-19,3639
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	-3,80000	,000	-5,4361	-2,1639
	DOSIS 100mgKg	,00000	1,000	-1,6361	1,6361
	DOSIS 300mgKg	1,00000	,432	-,6361	2,6361
	DOSIS 400mgKg	-1,00000	,432	-2,6361	,6361
DOSIS 300mgKg	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	-22,00000	,000	-23,6361	-20,3639
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	-4,80000	,000	-6,4361	-3,1639
	DOSIS 100mgKg	-1,00000	,432	-2,6361	,6361
	DOSIS 200mgKg	-1,00000	,432	-2,6361	,6361
	DOSIS 400mgKg	-2,00000	,010	-3,6361	-,3639
DOSIS 400mgKg	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	-20,00000	,000	-21,6361	-18,3639
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	-2,80000	,000	-4,4361	-1,1639
	DOSIS 100mgKg	1,00000	,432	-,6361	2,6361
	DOSIS 200mgKg	1,00000	,432	-,6361	2,6361
	DOSIS 300mgKg	2,00000	,010	,3639	3,6361

Tabla 15: Prueba post Hoc o de Tukey del periodo de latencia del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 15**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples del periodo de latencia y el extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del patrón con todas las dosis administradas de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg; además las dosis de 300mg/Kg con la de 400mg/Kg, afirmación que se corrobora con el nivel de significancia $p < 0,05$.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos del periodo de latencia y extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05			
		1	2	3	4
DOSIS 300mgKg	5	28,0000			
DOSIS 100mgKg	5	29,0000	29,0000		
DOSIS 200mgKg	5	29,0000	29,0000		
DOSIS 400mgKg	5		30,0000		
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO	5			32,8000	
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO	5				50,0000

Tabla 16: Prueba de subconjuntos homogéneos del periodo de latencia del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 16**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados del periodo de latencia divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen cuatro subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 1 está formado por promedios de los periodos de latencia de las dosis de 100, 200 y 300 mg/kg de peso; el subconjunto 2 formado por la dosis de 100, 200 y 400 mg/kg de peso; lo q nos muestra que los grupos de cada subconjunto tienen similar periodo de latencia.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

El periodo de latencia de la Furosemida en este ensayo realizado fue de 33 minutos lo que nos indica que los extractos tienen un inicio de acción rápida en comparación con el fármaco patrón Furosemida. Por bibliografía se sabe que la acción de la Furosemida comienza a los 30 minutos luego de su administración vía oral, entonces podemos decir que los extractos en estudio tienen un inicio del efecto parecido al de la Furosemida. Este inicio de acción rápida puede ser muy útil en casos de insuficiencia cardiaca aguda, edema agudo de pulmón porque se produce una rápida reducción del volumen de líquido extracelular lo cual puede producir una rápida mejoría. ⁽⁶⁾

4.2.2. EXCRECIÓN VOLUMÉTRICA.

Excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico y acuoso

TRATAMIENTO	EXCRECIÓN VOLUMETRICA URINARIA DEEXTRACTO HIDROALCOHOLICO (%)	EXCRECIÓN VOLUMETRICA URINARIA DEEXTRACTO ACUOSO (%)
BLANCO	60.63	59.45
FUROSEMIDA	83.18	79.63
100 mg/Kg	60.66	75.24
200 mg/kg	61.86	76.25
300 mg/kg	66.78	87.75
400 mg/kg	69.44	88.27

Tabla 17: Excreción volumétrica de los extractos hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

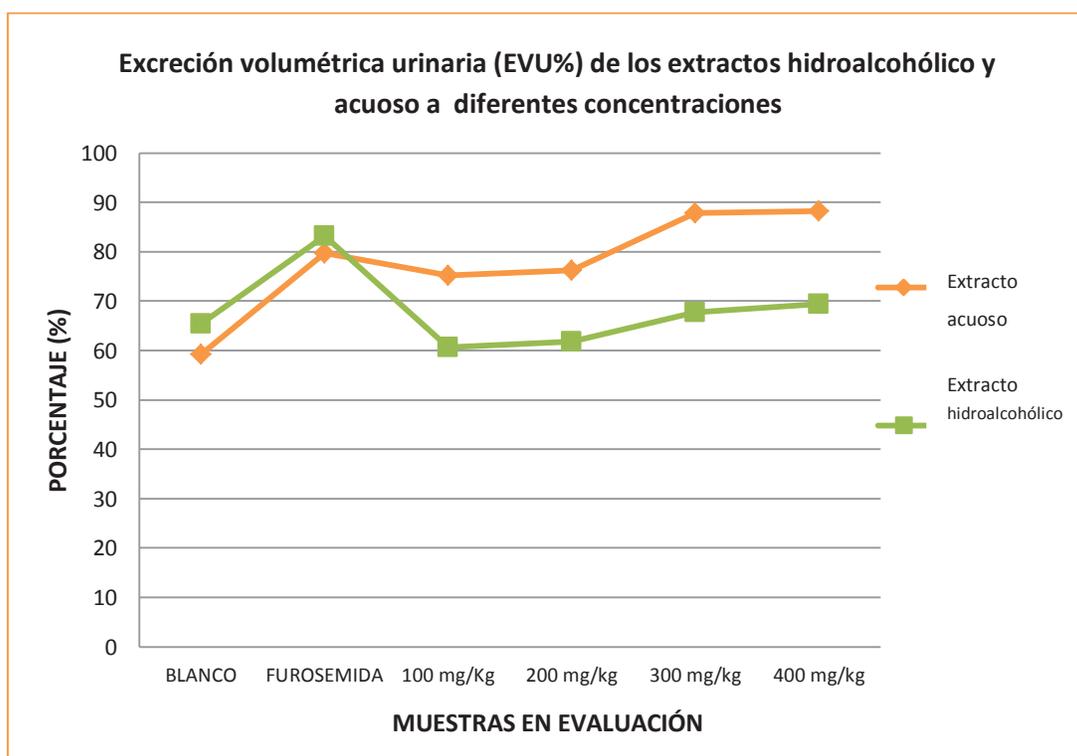


Gráfico 3: Excreción volumétrica de los extractos hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

En la **tabla 17**, se puede observar que a las dosis administradas de 100, 200, 300 y 400mg/ Kg de peso de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y el extracto seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) incrementan los porcentajes de excreción volumétrica urinaria (EVU%) de acuerdo a las dosis administradas. Comparando el EVU% del extracto seco hidroalcohólico al 70% con el

fármaco patrón (Furosemida) que reporto un valor de 83,18%, se observa que los EVU% obtenidos a las dosis administradas son inferiores a este; en cambio en el extracto seco acuoso al 20% a las dosis de 100, 200mg/ Kg, reportaron un valores menores al del fármaco patrón de valor de 79,67%, se observó también que a las dosis de 300 y 400mg/Kg reportaron valores que fueron mayores al obtenido por el fármaco patrón (Furosemida).

En el **gráfico 3**, se puede observar una comparación del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) de ambos extractos y las diferentes dosis administradas, por lo cual podemos decir que el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) para el extracto seco acuoso al 20% no es dependiente de la dosis; caso contrario se observó que en el extracto seco hidroalcohólico al 70% en el cual el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) es dependiente de la dosis.

4.2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PORCENTAJE DE EXCRECIÓN

EXTRACTO HIDRALCOHOLICO

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación del porcentaje de excreción volumétrica urinaria relacionando las dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	1827,679	5	365,536	31,560	,000
DENTRO DE GRUPOS	277,974	24	11,582		
TOTAL	2105,653	29			

Tabla 18: Anova del porcentaje de excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 18**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en el volumen de excreción urinaria (EVU). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes volúmenes de excreción urinaria.

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple del volumen de excreción urinaria con el extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EVU(%)	PATRÓN - EVU (%)	-22,47800	,000	-29,1331	-15,8229
	DOSIS 100mg - EVU (%)	-,15600	1,000	-6,8111	6,4991
	DOSIS 200mg - EVU (%)	-1,35600	,988	-8,0111	5,2991
	DOSIS 300mg - EVU (%)	-6,15200	,082	-12,8071	,5031
	DOSIS 400mg - EVU (%)	-7,68000	,017	-14,3351	-1,0249
PATRÓN - EVU(%)	BLANCO - EVU (%)	22,47800	,000	15,8229	29,1331
	DOSIS 100mg - EVU (%)	22,32200	,000	15,6669	28,9771
	DOSIS 200mg - EVU (%)	21,12200	,000	14,4669	27,7771
	DOSIS 300mg - EVU (%)	16,32600	,000	9,6709	22,9811
	DOSIS 400mg - EVU (%)	14,79800	,000	8,1429	21,4531
DOSIS 100mg - EVU (%)	BLANCO - EVU (%)	,15600	1,000	-6,4991	6,8111
	PATRÓN - EVU (%)	-22,32200	,000	-28,9771	-15,6669
	DOSIS 200mg - EVU (%)	-1,20000	,993	-7,8551	5,4551
	DOSIS 300mg - EVU (%)	-5,99600	,095	-12,6511	,6591
	DOSIS 400mg - EVU (%)	-7,52400	,020	-14,1791	-,8689
DOSIS 200mg - EVU (%)	BLANCO - EVU (%)	1,35600	,988	-5,2991	8,0111
	PATRÓN - EVU (%)	-21,12200	,000	-27,7771	-14,4669
	DOSIS 100mg - EVU (%)	1,20000	,993	-5,4551	7,8551
	DOSIS 300mg - EVU (%)	-4,79600	,262	-11,4511	1,8591
	DOSIS 400mg - EVU (%)	-6,32400	,069	-12,9791	,3311
DOSIS 300mg - EVU (%)	BLANCO - EVU (%)	6,15200	,082	-,5031	12,8071
	PATRÓN - EVU (%)	-16,32600	,000	-22,9811	-9,6709
	DOSIS 100mg - EVU (%)	5,99600	,095	-,6591	12,6511
	DOSIS 200mg - EVU (%)	4,79600	,262	-1,8591	11,4511
	DOSIS 400mg - EVU (%)	-1,52800	,979	-8,1831	5,1271
DOSIS 400mg - EVU (%)	BLANCO - EVU (%)	7,68000	,017	1,0249	14,3351
	PATRÓN - EVU (%)	-14,79800	,000	-21,4531	-8,1429
	DOSIS 100mg - EVU (%)	7,52400	,020	,8689	14,1791
	DOSIS 200mg - EVU (%)	6,32400	,069	-,3311	12,9791
	DOSIS 300mg - EVU (%)	1,52800	,979	-5,1271	8,1831

Tabla 19: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 19**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples del volumen de excreción urinaria y extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del patrón con todas las dosis administradas y además la de la dosis de 100 mg/Kg con la de 400 mg/Kg afirmación que se corrobora con el nivel de significancia $p < 0,05$.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos del volumen de excreción urinaria y extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05		
		1	2	3
BLANCO – EVU (%)	5	60,6300		
DOSIS 100mg – EVU (%)	5	60,7860		
DOSIS 200mg – EVU (%)	5	61,9860	61,9860	
DOSIS 300mg – EVU (%)	5	66,7820	66,7820	
DOSIS 400mg – EVU (%)	5		68,3100	
PATRÓN – EVU (%)	5			83,1080

Tabla 20: Prueba de subconjuntos homogéneos del porcentaje de excreción volumétrica del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 20**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados del volumen de excreción urinaria divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen tres subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 1 está formado por promedios de los porcentajes de excreción volumétrica de las dosis de 100, 200 y 300 mg/kg de peso; el subconjunto 2 formado por la dosis de 200, 300 y 400 mg/kg de peso; lo que nos muestra que los grupos de cada subconjunto tienen similar porcentaje de excreción volumétrica.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

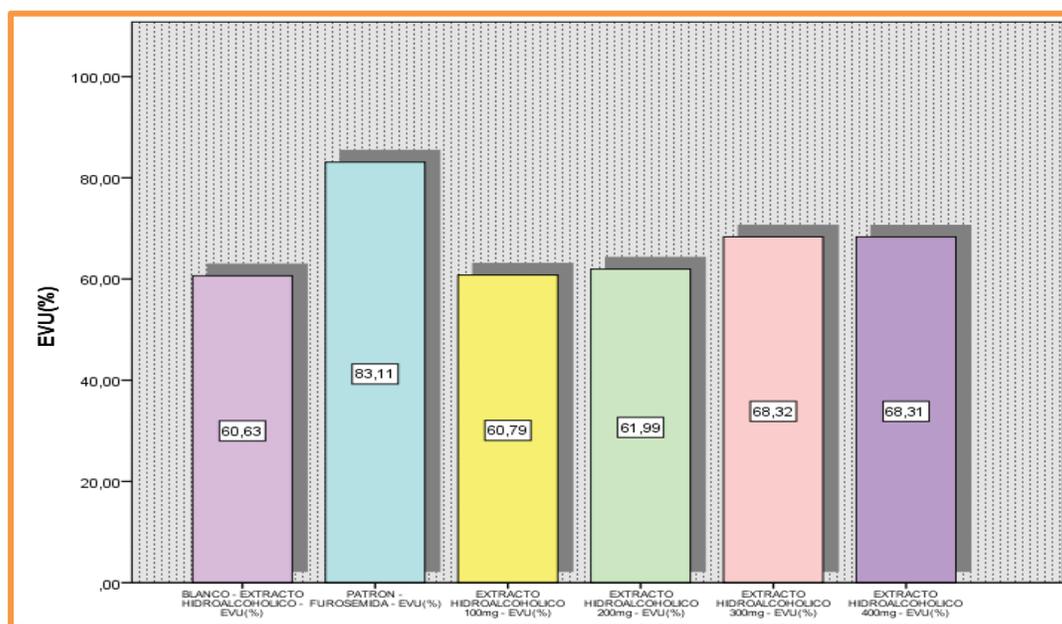


Gráfico 4: Porcentajes de excreción volumétrica urinaria del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 4**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción volumétrica urinaria (EVU%) a dosis 300 y 400 mg/ Kg del extracto seco hidroalcohólico al 70% son los valores más altos obtenidos los cuales son de 66,78% y 68,31% respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 100mg del extracto seco hidroalcohólico al 70% el promedio obtenido fue de 60,79% y el de dosis 200mg/Kg fue de 61,99%; por tanto, la dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** que tiene mayor porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) es la de 400 mg/ Kg de peso. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemda) se obtuvieron que los promedios del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) del extracto seco hidroalcohólico al 70% son menores en todos los casos.

EXTRACTO ACUOSO

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para comparar el porcentaje de excreción volumétrica urinaria relacionando las dosis del extracto seco acuoso al 20% de Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	2790,136	5	558,027	98,203	,000
DENTRO DE GRUPOS	136,378	24	5,682		
TOTAL	2926,514	29			

Tabla 21: Anova del porcentaje de excreción volumétrica del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 21**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en el volumen de excreción urinaria (EVU). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes volúmenes de excreción urinaria.

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple del volumen de excreción urinaria con el extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	-20,18000	,000	-24,8415	-15,5185
	DOSIS 100mg - EVU(%)	-15,79000	,000	-20,4515	-11,1285
	DOSIS 200mg - EVU(%)	-16,80800	,000	-21,4695	-12,1465
	DOSIS 300mg - EVU(%)	-28,31200	,000	-32,9735	-23,6505
	DOSIS 400mg - EVU(%)	-28,82800	,000	-33,4895	-24,1665
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	20,18000	,000	15,5185	24,8415
	DOSIS 100mg - EVU(%)	4,39000	,073	-,2715	9,0515
	DOSIS 200mg - EVU(%)	3,37200	,258	-1,2895	8,0335
	DOSIS 300mg - EVU(%)	-8,13200	,000	-12,7935	-3,4705
	DOSIS 400mg - EVU(%)	-8,64800	,000	-13,3095	-3,9865
DOSIS 100mg - EVU(%)	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	15,79000	,000	11,1285	20,4515
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	-4,39000	,073	-9,0515	,2715
	DOSIS 200mg - EVU(%)	-1,01800	,983	-5,6795	3,6435
	DOSIS 300mg - EVU(%)	-12,52200	,000	-17,1835	-7,8605
	DOSIS 400mg - EVU(%)	-13,03800	,000	-17,6995	-8,3765
DOSIS 200mg - EVU(%)	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	16,80800	,000	12,1465	21,4695
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	-3,37200	,258	-8,0335	1,2895
	DOSIS 100mg - EVU(%)	1,01800	,983	-3,6435	5,6795
	DOSIS 300mg - EVU(%)	-11,50400	,000	-16,1655	-6,8425
	DOSIS 400mg - EVU(%)	-12,02000	,000	-16,6815	-7,3585
DOSIS 300mg - EVU(%)	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	28,31200	,000	23,6505	32,9735
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	8,13200	,000	3,4705	12,7935
	DOSIS 100mg - EVU(%)	12,52200	,000	7,8605	17,1835
	DOSIS 200mg - EVU(%)	11,50400	,000	6,8425	16,1655
	DOSIS 400mg - EVU(%)	-,51600	,999	-5,1775	4,1455
DOSIS 400mg - EVU(%)	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	28,82800	,000	24,1665	33,4895
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	8,64800	,000	3,9865	13,3095
	DOSIS 100mg - EVU(%)	13,03800	,000	8,3765	17,6995
	DOSIS 200mg - EVU(%)	12,02000	,000	7,3585	16,6815
	DOSIS 300mg - EVU(%)	,51600	,999	-4,1455	5,1775

Tabla 22: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de excreción volumétrica del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 22**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples del volumen de excreción urinaria y extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas a la dosis de 400 mg/Kg con las dosis de 100, 200 y 300mg/Kg afirmación que se corrobora con el nivel de significancia $p < 0,05$.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos del volumen de excreción urinaria y extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05		
		1	2	3
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - EVU(%)	5	59,4460		
DOSIS 100mg - EVU(%)	5		75,2360	
DOSIS 200mg - EVU(%)	5		76,2540	
PATRÓN FUROSEMIDA - EVU(%)	5		79,6260	
DOSIS 300mg - EVU(%)	5			87,7580
DOSIS 400mg - EVU(%)	5			88,2740

Tabla 23: Prueba de subconjuntos homogéneos del porcentaje de excreción volumétrica del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 23**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados del volumen de excreción urinaria divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen tres subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 2 está formado por promedios de los porcentajes de excreción volumétrica de las dosis de 100, 200 mg/kg de peso y patrón furosemida; el subconjunto 3 formado por la dosis de 300 y 400 mg/kg de peso; lo que nos muestra que los grupos de cada subconjunto tienen similar porcentaje de excreción volumétrica.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

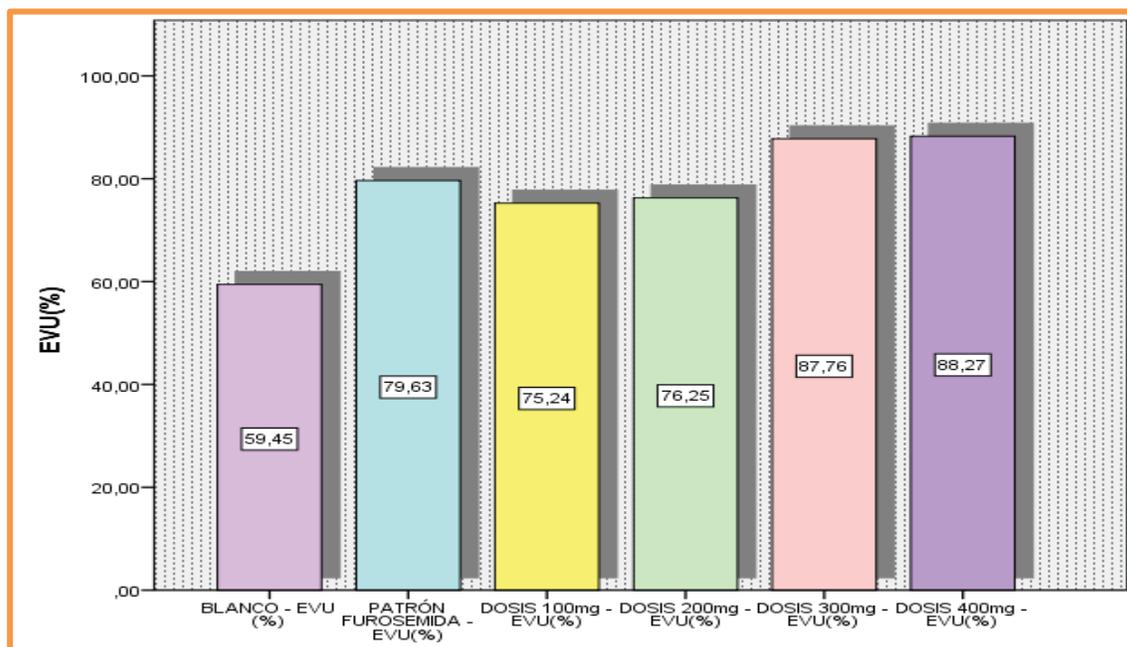


Gráfico 5: Porcentajes de excreción volumétrica urinaria del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 5**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción volumétrica urinaria a dosis 300 y 400 mg/ Kg del extracto seco acuoso al 20% son los valores más altos obtenidos los cuales son 76,25% y 88,27% respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 100mg/Kg del extracto seco acuoso al 20% el promedio obtenido fue de 71,88% y el de dosis 200mg/Kg fue de 63,93%; por tanto, la dosis del extracto seco acuoso al 20% que tiene menor excreción volumétrica urinaria es la de 200 mg/ Kg ya que este es el menor de todos. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) se obtuvieron que los promedios de excreción volumétrica urinaria (EVU%) del extracto seco acuoso al 20% a dosis 100mg/Kg y 200mg/Kg son menores que el promedio obtenido del fármaco patrón (Furosemida).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS:

Según los datos obtenidos en las pruebas de efecto diurético, se observó que en la prueba del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%), la cual podemos ver en el **gráfico 4**, los resultados del extracto hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y en el **gráfico 5**, los resultados del extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, con los cuales podemos realizar una comparación entre los extractos hidroalcohólico al 70% y el extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y podemos inferir de que: el extracto acuoso al 20% fue el que reportó resultados superiores del porcentaje de excreción volumétrica urinaria y que la dosis a la cual se obtuvo mayor porcentaje fue la de 400mg/Kg siendo de 88%, incluso superior a la del fármaco patrón (Furosemida) el cual reportó 79.63%; en comparación con el extracto hidroalcohólico al 70% el cual reportó un resultado mayor del porcentaje de excreción volumétrica urinaria a la dosis de 400mg/Kg siendo de 68%, pero inferior a la del fármaco patrón (Furosemida) el cual reportó 83%.

Debido a que no existe una bibliografía específica acerca del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, y como usamos a la Furosemida como fármaco patrón, la cual pertenece a los diuréticos de techo alto y podemos ver en los resultados (**Fig. 14 y Fig. 15**), que el extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** a las concentraciones de 300 y 400mg/Kg, el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) es mayor que del fármaco patrón pero a dosis de 100 y 200 mg/Kg se observa de que es menor a la del fármaco patrón, asimismo ocurre con el extracto hidroalcohólico al 70% en todas las dosis administradas; de acuerdo al trabajo de investigación el mejor resultado obtenido en el extracto acuoso que fue de 95.56%, podemos observar que los porcentajes de excreción volumétrica urinaria son menores a este; lo contrario sucede con el extracto seco hidroalcohólico que en todas las dosis administradas son mayores al valor máximo (62,46%) obtenido en dicho trabajo de investigación ⁽⁵⁾

Los fármacos que actúan en este sitio (rama ascendente del asa de Henle) producen una diuresis mucho mayor que otros diuréticos. Sin embargo en altas dosis estos fármacos pueden inducir alteraciones en la composición electrolítica.

(37) (38)

4.3. EXCRECIÓN DE ELECTROLITOS EN ORINA

4.3.1. CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITOS EXCRETADOS EN ORINA DE RATAS.

DOSIS ADMINISTRADA	EXTRACTO HIDROALÓHOLICO			EXTRACTO ACUOSO		
	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Cl ⁻ (mEq/L)	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Cl ⁻ (mEq/L)
FUROSEMIDA	96,02	22,05	115,27	92,76	18,64	110,66
100mg/Kg	81,86	25,18	104,9	117,81	13,46	130,52
200mg/Kg	85,41	29,94	115,64	135,76	12,58	150,36
300mg/Kg	38,50	7,92	51,19	145,60	9,51	155,52
400mg/Kg	53,85	13,34	70,11	110,54	12,31	130,41

Tabla 24: Promedios de excreción de electrolitos.

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

En la **tabla 24**, se observa el promedio de la cantidad total de excreción de electrolitos Sodio (Na⁺), Cloro (Cl⁻) y potasio (K⁺) de los extractos seco hidroalcohólico al 70 % y extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**; se observa que:

En el extracto seco hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** se obtuvo que las dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg de peso, la excreción de electrolito sodio (Na⁺) son todas menores a las del fármaco patrón (Furosemida); para la excreción de electrolito potasio (K⁺) y cloro (Cl⁻) se obtuvo que para las dosis de 100, 200 mg/Kg de peso fueron semejantes a la del fármaco patrón y a las dosis de 300 y 400mg/Kg de peso fueron menores a la del fármaco patrón (Furosemida).

En el extracto seco acuoso al 20 % de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** a la dosis de 300 mg/Kg de peso es el que produce mayor excreción de electrolitos sodio (Na⁺) y cloro (Cl⁻) y una menor cantidad de electrolito potasio (K⁺), en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) y las diferentes dosis del extracto seco acuoso al 20 %.

También se observa que la cantidad de cloruros excretados es aproximadamente la suma de la cantidad de electrolitos sodio y potasio, esto probablemente se deba a lo que Litter propone: que el anión cloruro aparece en la orina unido a los cationes sodio, potasio e hidrogeno, de manera que se excreta en exceso con respecto al sodio. ⁽²⁸⁾

4.3.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITOS EXCRETADOS

CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITO CLORO PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación de la excreción de cloro (Cl⁻) con las diferentes dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	25947,315	5	5189,463	747,140	,000
DENTRO DE GRUPOS	166,699	24	6,946		
TOTAL	26114,014	29			

Tabla 25: Anova de la excreción de cloro del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 25**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en la excreción del electrolito Cloro (Cl⁻). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes cantidades de electrolito Cloro (Cl⁻).

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de la excreción del electrolito Cloro (Cl⁻) con el extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	-70,06200	,000	-75,2157	-64,9083
	DOSIS 100mg - CI	-59,69000	,000	-64,8437	-54,5363
	DOSIS 200mg - CI	-70,42800	,000	-75,5817	-65,2743
	DOSIS 300mg - CI	-5,97800	,016	-11,1317	-,8243
	DOSIS 400mg - CI	-24,90000	,000	-30,0537	-19,7463
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	70,06200	,000	64,9083	75,2157
	DOSIS 100mg - CI	10,37200	,000	5,2183	15,5257
	DOSIS 200mg - CI	-,36600	1,000	-5,5197	4,7877
	DOSIS 300mg - CI	64,08400	,000	58,9303	69,2377
	DOSIS 400mg - CI	45,16200	,000	40,0083	50,3157
DOSIS 100mg - CI	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	59,69000	,000	54,5363	64,8437
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	-10,37200	,000	-15,5257	-5,2183
	DOSIS 200mg - CI	-10,73800	,000	-15,8917	-5,5843
	DOSIS 300mg - CI	53,71200	,000	48,5583	58,8657
	DOSIS 400mg - CI	34,79000	,000	29,6363	39,9437
DOSIS 200mg - CI	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	70,42800	,000	65,2743	75,5817
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	-,36600	1,000	-4,7877	5,5197
	DOSIS 100mg - CI	10,73800	,000	5,5843	15,8917
	DOSIS 300mg - CI	64,45000	,000	59,2963	69,6037
	DOSIS 400mg - CI	45,52800	,000	40,3743	50,6817
DOSIS 300mg - CI	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	5,97800	,016	-,8243	11,1317
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	-64,08400	,000	-69,2377	-58,9303
	DOSIS 100mg - CI	-53,71200	,000	-58,8657	-48,5583
	DOSIS 200mg - CI	-64,45000	,000	-69,6037	-59,2963
	DOSIS 400mg - CI	-18,92200	,000	-24,0757	-13,7683
DOSIS 400mg - CI	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	24,90000	,000	19,7463	30,0537
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - CI	-45,16200	,000	-50,3157	-40,0083
	DOSIS 100mg - CI	-34,79000	,000	-39,9437	-29,6363
	DOSIS 200mg - CI	-45,52800	,000	-50,6817	-40,3743
	DOSIS 300mg - CI	18,92200	,000	13,7683	24,0757

Tabla 26: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito cloro del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 26**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples de la excreción del electrolito Cloro (Cl⁻) y el extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del contenido de electrolito Cloro (Cl⁻) con todas las dosis administradas de 100 200, 300 y 400mg/Kg, afirmación que se corrobora con el nivel de significancia p< 0,05.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos de la excreción del electrolito Cloro (Cl⁻) y extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05				
		1	2	3	4	5
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Cl	5	45,2120				
DOSIS 300mg - Cl	5		51,1900			
DOSIS 400mg - Cl	5			70,1120		
DOSIS 100mg - Cl	5				104,9020	
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Cl	5					115,2740
DOSIS 200mg - Cl	5					115,6400

Tabla 27: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito cloro del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 27**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados de la excreción del electrolito cloro (Cl⁻) divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen cinco subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 5 está formado por promedios de la cantidad de excreción del electrolito Cloro las dosis de 200 y patrón Furosemida, lo q nos muestra que los grupos de este subconjunto tienen similar excreción del electrolito Cloro.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

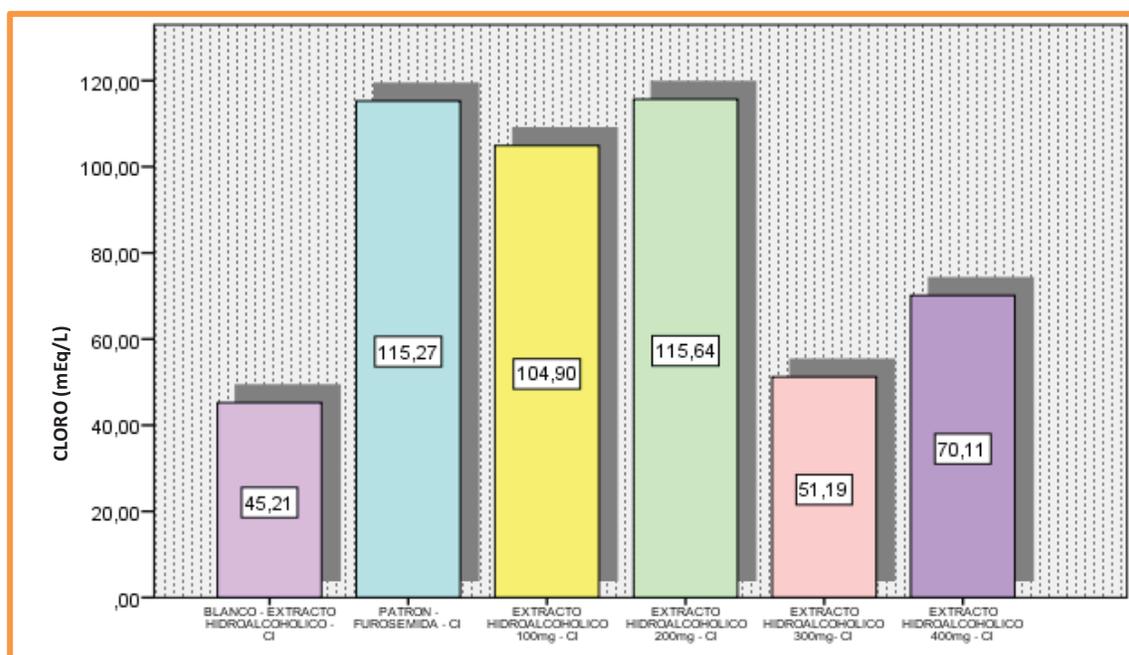


Gráfico 6: Excreción de cloro (mEq/L) del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 6**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción de cloro (Cl) a dosis 100 y 200 mg/ Kg del extracto seco hidroalcohólico al 70% son los valores más altos obtenidos los cuales son 104,90mEq/L y 115,64mEq/L respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 300mg del extracto seco hidroalcohólico al 70% el promedio obtenido fue de 51,19mEq/L y el de dosis 400mg/Kg fue de 70,11mEq/L; por tanto, la dosis del extracto seco hidroalcohólico que tiene menor excreción del electrolito cloro es la de 300 mg/Kg ya que este es el menor de todos. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) se obtuvieron similares promedios de excreción del electrolito cloro (Cl) a la dosis de 200 mg/ Kg, en cambio las demás dosis reportaron valores inferiores al fármaco patrón.

CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITO CLORO PARA EL EXTRACTO ACUOSO

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) de la excreción de cloro (Cl⁻) relacionado con las diferentes dosis del extracto seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	37407,642	5	7481,528	845,330	,000
DENTRO DE GRUPOS	212,410	24	8,850		
TOTAL	37620,052	29			

Tabla 28: Anova de la excreción de cloro del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 28**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en la excreción del electrolito cloro (Cl⁻). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes cantidades de electrolito cloro (Cl⁻).

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de la excreción del electrolito Cloro (Cl⁻) con el extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	-61,37200	,000	-67,1896	-55,5544
	DOSIS 100mg - Cl	-81,23200	,000	-87,0496	-75,4144
	DOSIS 200mg - Cl	-101,06800	,000	-106,8856	-95,2504
	DOSIS 300mg - Cl	-106,22600	,000	-112,0436	-100,4084
	DOSIS 400mg - Cl	-81,11800	,000	-86,9356	-75,3004
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	61,37200	,000	55,5544	67,1896
	DOSIS 100mg - Cl	-19,86000	,000	-25,6776	-14,0424
	DOSIS 200mg - Cl	-39,69600	,000	-45,5136	-33,8784
	DOSIS 300mg - Cl	-44,85400	,000	-50,6716	-39,0364
	DOSIS 400mg - Cl	-19,74600	,000	-25,5636	-13,9284
DOSIS 100mg - Cl	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	81,23200	,000	75,4144	87,0496
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	19,86000	,000	14,0424	25,6776
	DOSIS 200mg - Cl	-19,83600	,000	-25,6536	-14,0184
	DOSIS 300mg - Cl	-24,99400	,000	-30,8116	-19,1764
	DOSIS 400mg - Cl	,11400	1,000	-5,7036	5,9316
DOSIS 200mg - Cl	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	101,06800	,000	95,2504	106,8856
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	39,69600	,000	33,8784	45,5136
	DOSIS 100mg - Cl	19,83600	,000	14,0184	25,6536
	DOSIS 300mg - Cl	-5,15800	,103	-10,9756	,6596
	DOSIS 400mg - Cl	19,95000	,000	14,1324	25,7676
DOSIS 300mg - Cl	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	106,22600	,000	100,4084	112,0436
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	44,85400	,000	39,0364	50,6716
	DOSIS 100mg - Cl	24,99400	,000	19,1764	30,8116
	DOSIS 200mg - Cl	5,15800	,103	-,6596	10,9756
	DOSIS 400mg - Cl	25,10800	,000	19,2904	30,9256
DOSIS 400mg - Cl	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	81,11800	,000	75,3004	86,9356
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	19,74600	,000	13,9284	25,5636
	DOSIS 100mg - Cl	-,11400	1,000	-5,9316	5,7036
	DOSIS 200mg - Cl	-19,95000	,000	-25,7676	-14,1324
	DOSIS 300mg - Cl	-25,10800	,000	-30,9256	-19,2904

Tabla 29: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito cloro del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 29**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples de la excreción del electrolito cloro (Cl⁻) y extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del patrón con todas las dosis administradas de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg exceptuando las dosis de 100mg/Kg con la de 400 mg/Kg y las dosis de 200mg/Kg con la de 300 mg/Kg, afirmación que se corrobora con el nivel de significancia $p < 0,05$.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos de la excreción del electrolito Cloro (Cl⁻) y extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05			
		1	2	3	4
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Cl	5	49,2900			
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Cl	5		110,6620		
DOSIS 400mg - Cl	5			130,4080	
DOSIS 100mg - Cl	5			130,5220	
DOSIS 200mg - Cl	5				150,3580
DOSIS 300mg - Cl	5				155,5160

Tabla 30: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito cloro del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 30**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados de la excreción del electrolito cloro (Cl⁻) divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen cuatro subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 3 está formado por promedios de la cantidad de excreción del electrolito Cloro de las dosis de 100 y 400; el subconjunto 4 por las dosis de 200 y 400 mg/kg de peso, lo q nos muestra que los grupos de estos subconjunto tienen similar excreción del electrolito Cloro.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

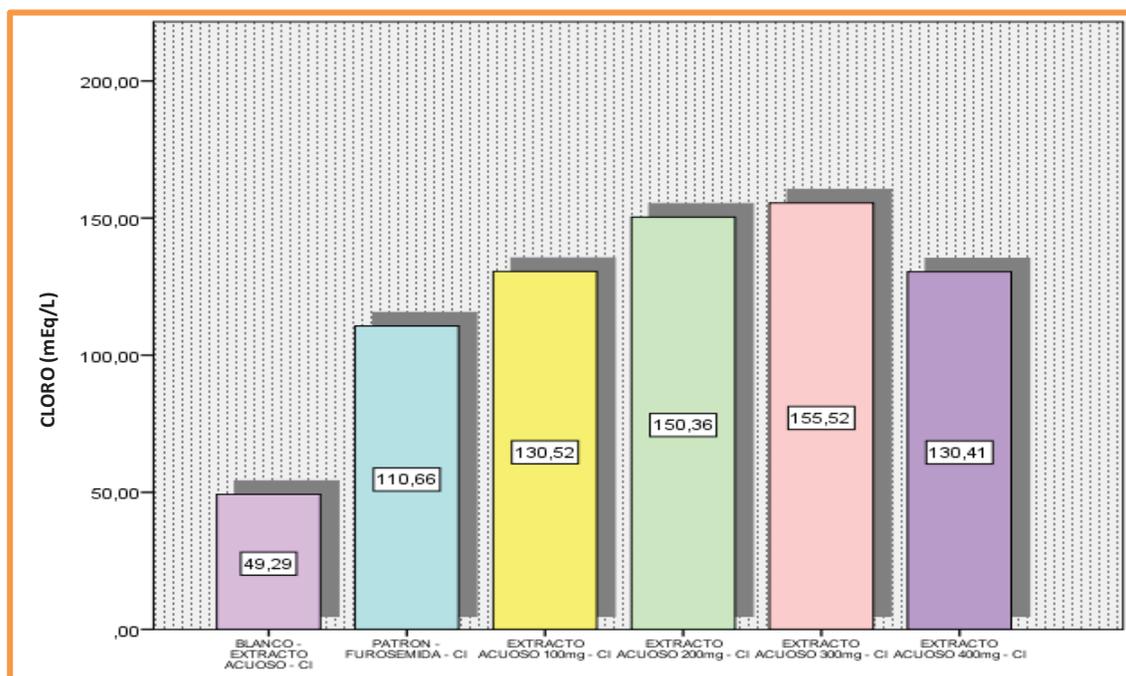


Gráfico 7: Excreción de cloro (mEq/L) del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 7**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción de cloro (Cl^-) a dosis 200 y 300mg/ Kg del extracto seco acuoso al 20% son los valores más altos obtenidos los cuales son 150,36mEq/L y 155,52mEq/L respectivamente; por tanto, las dosis del extracto seco acuoso al 20% que tiene menor excreción del electrolito cloro es la de 100 y 400 mg/ Kg ya que reportaron valores de 130,52mEq/L y 130,41mEq/L respectivamente. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) se obtuvo que todos los valores de los promedios obtenidos de excreción del electrolito cloro (Cl^-) son mayores a este.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS:

En el **gráfico 6**, se observa los resultados de la cuantificación de cloro (Cl^-) del extracto seco hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y en el **gráfico 7**, los resultados del extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, con los cuales podemos realizar una comparación entre los extractos hidroalcohólico al 70% y el extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y podemos inferir de que: el extracto seco acuoso al 20% fue el que reportó resultados superiores de la cantidad de cloro (Cl^-) y que la dosis a la cual se obtuvo mayor cantidad del electrolito cloro (Cl^-) fue la de 300mg/Kg siendo de 155 mEq/L, incluso superior a la del fármaco patrón (Furosemida) el cual reportó 110mEq/L; en comparación con el extracto hidroalcohólico al 70% el cual reportó un resultado mayor cantidad del electrolito cloro (Cl^-) a la dosis de 200mg/Kg siendo de 115,64 mEq/L, pero similar a la del fármaco patrón (Furosemida) el cual reportó 115,27mEq/L.

Comparando con los resultados obtenidos en el trabajo de investigación de la especie Noni – C (**Morinda citrifolia**) el máximo valor de la excreción del electrolito cloro (Cl^-) fue de 79,23 mEq/L, los cuales fueron cuantificados en la orina obtenida durante 24H el cual es bajo a los resultados obtenidos en nuestra investigación. ⁽³⁹⁾

CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITO POTASIO PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) de la excreción de potasio (K⁺) relacionado con las diferentes dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA.
ENTRE GRUPOS	1754,723	5	350,945	50,395	,000
DENTRO DE GRUPOS	167,133	24	6,964		
TOTAL	1921,855	29			

Tabla 31: Anova de la excreción de cloro del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 31**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en la excreción del electrolito potasio (K⁺). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes cantidades de electrolito potasio (K⁺).

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de la excreción del electrolito potasio (K⁺) con el extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	-8,50200	,000	-13,6624	-3,3416
	DOSIS 100mg - K	-11,63600	,000	-16,7964	-6,4756
	DOSIS 200mg - K	-16,39000	,000	-21,5504	-11,2296
	DOSIS 300mg - K	5,62400	,027	,4636	10,7844
	DOSIS 400mg - K	,20800	1,000	-4,9524	5,3684
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	8,50200	,000	3,3416	13,6624
	DOSIS 100mg - K	-3,13400	,439	-8,2944	2,0264
	DOSIS 200mg - K	-7,88800	,001	-13,0484	-2,7276
	DOSIS 300mg - K	14,12600	,000	8,9656	19,2864
	DOSIS 400mg - K	8,71000	,000	3,5496	13,8704
DOSIS 100mg - K	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	11,63600	,000	6,4756	16,7964
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	3,13400	,439	-2,0264	8,2944
	DOSIS 200mg - K	-4,75400	,083	-9,9144	,4064
	DOSIS 300mg - K	17,26000	,000	12,0996	22,4204
	DOSIS 400mg - K	11,84400	,000	6,6836	17,0044
DOSIS 200mg - K	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	16,39000	,000	11,2296	21,5504
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	7,88800	,001	2,7276	13,0484
	DOSIS 100mg - K	4,75400	,083	-,4064	9,9144
	DOSIS 300mg - K	22,01400	,000	16,8536	27,1744
	DOSIS 400mg - K	16,59800	,000	11,4376	21,7584
DOSIS 300mg - K	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	-5,62400	,027	-10,7844	-,4636
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	-14,12600	,000	-19,2864	-8,9656
	DOSIS 100mg - K	-17,26000	,000	-22,4204	-12,0996
	DOSIS 200mg - K	-22,01400	,000	-27,1744	-16,8536
	DOSIS 400mg - K	-5,41600	,036	-10,5764	-,2556
DOSIS 400mg - K	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	-,20800	1,000	-5,3684	4,9524
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	-8,71000	,000	-13,8704	-3,5496
	DOSIS 100mg - K	-11,84400	,000	-17,0044	-6,6836
	DOSIS 200mg - K	-16,59800	,000	-21,7584	-11,4376
	DOSIS 300mg - K	5,41600	,036	,2556	10,5764

Tabla 32: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito potasio del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 32**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples en la excreción del electrolito potasio (K⁺) y extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas en todas las dosis administradas exceptuando la de la dosis de 100 mg/Kg con la de 200 mg/Kg, afirmación que se corrobora con el nivel de significancia p < 0,05.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos de la excreción del electrolito potasio (K⁺) y extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05			
		1	2	3	4
DOSIS 300mg - K	5	7,9220			
DOSIS 400mg - K	5		13,3380		
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	5		13,5460		
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - K	5			22,0480	
DOSIS 100mg - K	5			25,1820	25,1820
DOSIS 200mg - K	5				29,9360

Tabla 33: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito potasio del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 33**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados de la excreción del electrolito potasio (K⁺) divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen cuatro subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 2 está formado por promedios de la cantidad de excreción del electrolito Potasio de las dosis de 400 y el blanco; el subconjunto 3 por las dosis de 100 y patrón Furosemida, el subconjunto 4 por las dosis de 100 y 200 mg/Kg de peso; lo q nos muestra que los grupos de estos subconjunto tienen similar excreción del electrolito Potasio.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

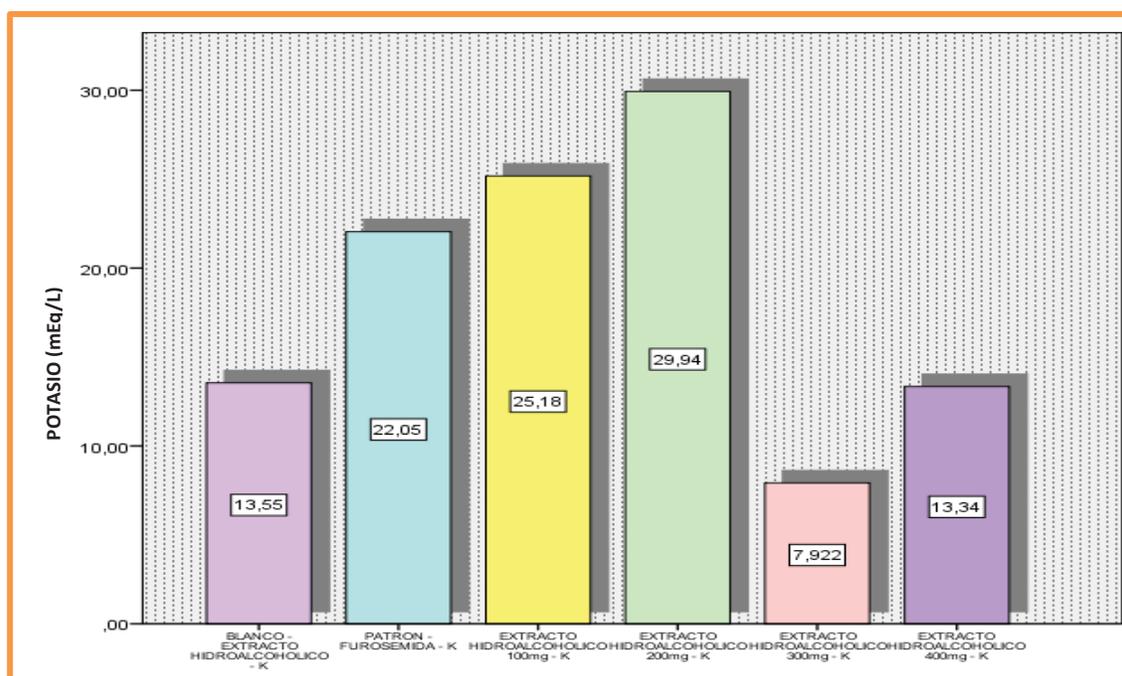


Gráfico 8: Excreción de potasio (mEq/L) del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 8**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción de potasio (K^+) a dosis 100 y 200mg/Kg del extracto seco hidroalcohólico al 70% son los valores más altos obtenidos los cuales son 25,18mEq/L, 29,94mEq/L respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 300mg/Kg del extracto seco hidroalcohólico al 70% el promedio obtenido fue de 7,92mEq/L y el de dosis 400mg/Kg fue de 13,34mEq/L; por tanto, la dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% que tiene menor excreción del electrolito cloro es la de 300 mg/ Kg ya que este el menor de todos. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) se obtuvo que este último es mayor con un promedio de 22mEq/L excediendo al menor en 15mEq/L, datos tomados de los promedios de excreción del electrolito potasio (K^+).

CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITO POTASIO PARA EL EXTRACTO ACUOSO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación de la excreción de potasio (K^+) relacionado con las diferentes dosis del extracto seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	224,207	5	44,841	11,652	,000
DENTRO DE GRUPOS	92,362	24	3,848		
TOTAL	316,570	29			

Tabla 34: Anova de la excreción de potasio del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 34**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en la excreción del electrolito potasio (K^+). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes cantidades de electrolito potasio (K^+).

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de la excreción del electrolito potasio (K⁺) con el extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	-4,58800	,013	-8,4242	-,7518
	DOSIS 100mg - K	,59400	,996	-3,2422	4,4302
	DOSIS 200mg - K	1,47600	,837	-2,3602	5,3122
	DOSIS 300mg - K	4,53800	,014	,7018	8,3742
	DOSIS 400mg - K	1,73800	,726	-2,0982	5,5742
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	4,58800	,013	,7518	8,4242
	DOSIS 100mg - K	5,18200	,004	1,3458	9,0182
	DOSIS 200mg - K	6,06400	,001	2,2278	9,9002
	DOSIS 300mg - K	9,12600	,000	5,2898	12,9622
	DOSIS 400mg - K	6,32600	,000	2,4898	10,1622
DOSIS 100mg - K	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	-,59400	,996	-4,4302	3,2422
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	-5,18200	,004	-9,0182	-1,3458
	DOSIS 200mg - K	,88200	,979	-2,9542	4,7182
	DOSIS 300mg - K	3,94400	,041	,1078	7,7802
	DOSIS 400mg - K	1,14400	,937	-2,6922	4,9802
DOSIS 200mg - K	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	-1,47600	,837	-5,3122	2,3602
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	-6,06400	,001	-9,9002	-2,2278
	DOSIS 100mg - K	-,88200	,979	-4,7182	2,9542
	DOSIS 300mg - K	3,06200	,174	-,7742	6,8982
	DOSIS 400mg - K	,26200	1,000	-3,5742	4,0982
DOSIS 300mg - K	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	-4,53800	,014	-8,3742	-,7018
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	-9,12600	,000	-12,9622	-5,2898
	DOSIS 100mg - K	-3,94400	,041	-7,7802	-,1078
	DOSIS 200mg - K	-3,06200	,174	-6,8982	,7742
	DOSIS 400mg - K	-2,80000	,250	-6,6362	1,0362
DOSIS 400mg - K	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	-1,73800	,726	-5,5742	2,0982
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	-6,32600	,000	-10,1622	-2,4898
	DOSIS 100mg - K	-1,14400	,937	-4,9802	2,6922
	DOSIS 200mg - K	-,26200	1,000	-4,0982	3,5742
	DOSIS 300mg - K	2,80000	,250	-1,0362	6,6362

Tabla 35 : Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito potasio del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 35**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples de la excreción del electrolito potasio (K⁺) y extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del patrón con todas las dosis administradas y la de la dosis de 100 mg/Kg con la de 300 mg/Kg afirmación que se corrobora con el nivel de significancia p< 0,05.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos de la excreción del electrolito potasio (K⁺) y extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05		
		1	2	3
DOSIS 300MG - K	5	9,5140		
DOSIS 400MG - K	5	12,3140	12,3140	
DOSIS 200MG - K	5	12,5760	12,5760	
DOSIS 100MG - K	5		13,4580	
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - K	5		14,0520	
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - K	5			18,6400

Tabla 36: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito potasio del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 36**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados de la excreción del electrolito potasio (K⁺) divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen tres subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 1 está formado por promedios de la cantidad de excreción del electrolito Potasio de las dosis de 200, 300 y 400 mg/Kg de peso; el subconjunto 2 por las dosis de 100, 200, 400 mg/Kg de peso y blanco; lo q nos muestra que los grupos de estos subconjunto tienen similar excreción del electrolito Potasio.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

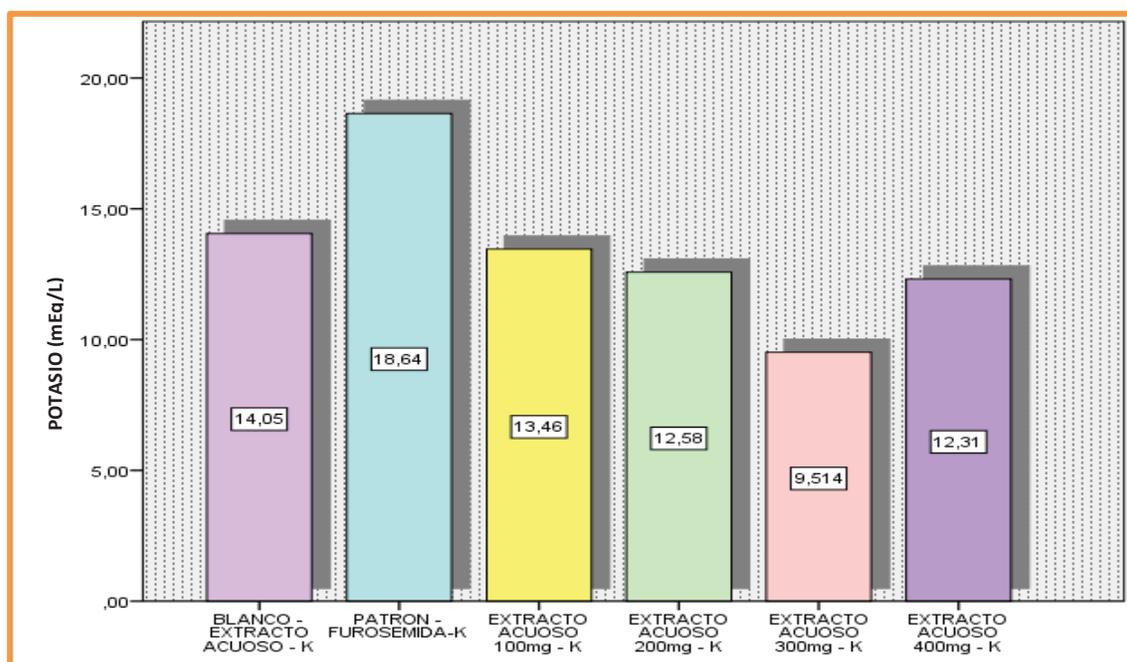


Gráfico 9: Excreción de potasio (mEq/L) del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 9**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción de potasio (K^+) a dosis 100 , 200 y 400 mg/Kg del extracto seco acuoso al 20% son los valores más altos obtenidos los cuales son 13,46mEq/L, 12,58mEq/L y 12,31mEq/L respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 300mg/Kg del extracto seco acuoso al 20% el promedio obtenido fue de 9,51mEq/L; por tanto, la dosis del extracto seco acuoso al 20% que tiene menor excreción de potasio (K^+) es la de 300 mg/ Kg ya que este el menor de todos. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) se obtuvieron que los promedios de excreción de potasio (K^+) del extracto seco acuoso al 20% a todas las dosis son menores que el promedio obtenido del fármaco patrón (Furosemida) siendo este el mayor valor obtenido que fue de 18mEq/L.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS:

En el **gráfico 8**, se observa los resultados de la cuantificación de potasio (K^+) del extracto seco hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y en el **gráfico 9**, los resultados del extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, con los cuales podemos realizar una comparación entre los extractos hidroalcohólico al 70% y el extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y podemos inferir de que: el extracto seco acuoso al 20% fue el que reportó resultados inferiores de la cantidad de potasio de los que se obtuvieron con el fármaco patrón furosemida; también las figuras 17 y 18 nos muestran que los extractos secos hidroalcohólico al 70% y acuoso al 20% a la dosis de 300mg/Kg (7,922 y 9,514 mEq/L respectivamente) son los que reportaron cantidades mínimas de potasio; la pérdida excesiva de potasio por la orina puede llevar a la hipokalemia.⁽²²⁾

Maykel (2011); reporto la cantidad de electrolitos K^+ en diferentes especies vegetales expresados en mEq/L, los resultados obtenidos fueron: C aurantium L. 41.30, A. cepa L. 57.70, U. baccifera L. 71.52, C. alata L. 61.39, P. americana Miller 41.27, Z. fagara L. 81.38, N coriaceae 44.42, C. pictus D.53.42. Estos datos son bastante elevados a los obtenidos en la **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, lo cual es muy importante en pacientes hipertensos.⁽⁴⁰⁾

CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITO SODIO PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación de la excreción de sodio (Na⁺) relacionado con las diferentes dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	18574,037	5	3714,807	96,354	,000
DENTRO DE GRUPOS	925,291	24	38,554		
TOTAL	19499,328	29			

Tabla 37: Anova de la excreción de sodio del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 37**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en la excreción del electrolito sodio (Na⁺). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes cantidades de electrolito sodio (Na⁺).

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) con el extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	-66,06800	,000	-78,2101	-53,9259
	DOSIS 100mg - Na	-51,90800	,000	-64,0501	-39,7659
	DOSIS 200mg - Na	-55,46000	,000	-67,6021	-43,3179
	DOSIS 300mg - Na	-8,54800	,285	-20,6901	3,5941
	DOSIS 400mg - Na	-23,90000	,000	-36,0421	-11,7579
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	66,06800	,000	53,9259	78,2101
	DOSIS 100mg - Na	14,16000	,016	2,0179	26,3021
	DOSIS 200mg - Na	10,60800	,112	-1,5341	22,7501
	DOSIS 300mg - Na	57,52000	,000	45,3779	69,6621
	DOSIS 400mg - Na	42,16800	,000	30,0259	54,3101
DOSIS 100mg - Na	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	51,90800	,000	39,7659	64,0501
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	-14,16000	,016	-26,3021	-2,0179
	DOSIS 200mg - Na	-3,55200	,942	-15,6941	8,5901
	DOSIS 300mg - Na	43,36000	,000	31,2179	55,5021
	DOSIS 400mg - Na	28,00800	,000	15,8659	40,1501
DOSIS 200mg - Na	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	55,46000	,000	43,3179	67,6021
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	-10,60800	,112	-22,7501	1,5341
	DOSIS 100mg - Na	3,55200	,942	-8,5901	15,6941
	DOSIS 300mg - Na	46,91200	,000	34,7699	59,0541
	DOSIS 400mg - Na	31,56000	,000	19,4179	43,7021
DOSIS 300mg - Na	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	8,54800	,285	-3,5941	20,6901
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	-57,52000	,000	-69,6621	-45,3779
	DOSIS 100mg - Na	-43,36000	,000	-55,5021	-31,2179
	DOSIS 200mg - Na	-46,91200	,000	-59,0541	-34,7699
	DOSIS 400mg - Na	-15,35200	,008	-27,4941	-3,2099
DOSIS 400mg - Na	BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	23,90000	,000	11,7579	36,0421
	PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	-42,16800	,000	-54,3101	-30,0259
	DOSIS 100mg - Na	-28,00800	,000	-40,1501	-15,8659
	DOSIS 200mg - Na	-31,56000	,000	-43,7021	-19,4179
	DOSIS 300mg - Na	15,35200	,008	3,2099	27,4941

Tabla 38: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito sodio del extracto hidroalcohólico.

.Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 38**, nos muestra el post test de Tukey, para comparaciones múltiples de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) y extracto seco hidroalcohólico a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas de todas las dosis administradas exceptuando la de la dosis de 100 mg/Kg con la de 200 mg/Kg afirmación que se corrobora con el nivel de significancia p< 0,05.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) y extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05			
		1	2	3	4
BLANCO - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	5	29,9540			
DOSIS 300mg - Na	5	38,5020			
DOSIS 400mg - Na	5		53,8540		
DOSIS 100mg - Na	5			81,8620	
DOSIS 200mg - Na	5			85,4140	85,4140
PATRÓN - EXTRACTO HIDROALCOHOLICO - Na	5				96,0220

Tabla 39: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito sodio del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 39**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen cuatro subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 1 está formado por promedios de la cantidad de excreción del electrolito Sodio de las dosis de 300 y blanco; el subconjunto 3 por las dosis de 100 y 200; lo q nos muestra que los grupos de estos subconjunto tienen similar excreción del electrolito Sodio.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

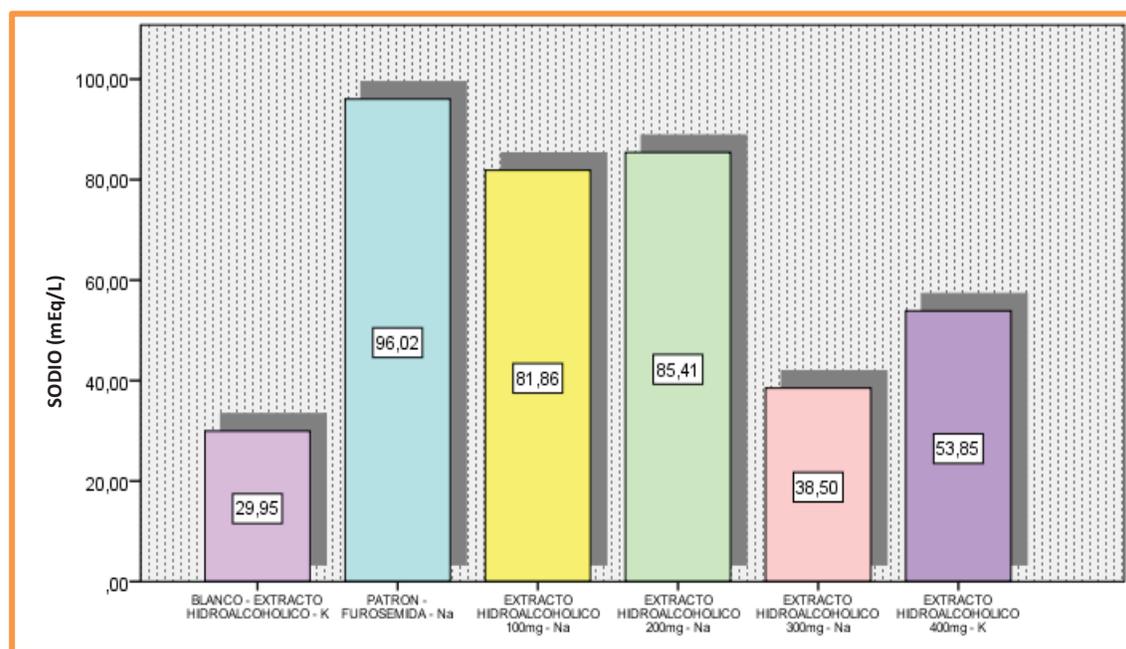


Gráfico 10: Excreción de sodio (mEq/L) del extracto hidroalcohólico.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 10**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción de sodio (Na^+) a dosis 100 mg/Kg y 200mg/Kg del extracto seco hidroalcohólico al 70% son los valores más altos obtenidos los cuales son 81,86mEq/L y 85,41mEq/L respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 300mg/Kg del extracto seco hidroalcohólico al 70% el promedio obtenido fue de 38,50mEq/L y el de dosis 400mg/Kg fue de 53,85mEq/L; por tanto, la dosis del extracto seco hidroalcohólico al 70% que tiene menor excreción del electrolito sodio (Na^+) es la de 300 mg/ Kg ya que este el menor de todos. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemda) se obtuvo que este último es mayor con un promedio de 96,02mEq/L excediendo al menor en 58mEq/L, datos tomados de los promedios de excreción del electrolito de sodio (Na^+).

CUANTIFICACIÓN DE ELECTROLITO SODIO PARA EL EXTRACTO ACUOSO.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación de la excreción de sodio (Na^+) relacionado con las diferentes dosis del extracto seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa), blanco y fármaco patrón.

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	41370,025	5	8274,005	77,799	,000
DENTRO DE GRUPOS	2552,434	24	106,351		
TOTAL	43922,459	29			

Tabla 40: Anova de la excreción de sodio del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 40**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (blanco, patrón, extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg) difieren en la excreción del electrolito sodio (Na^+). La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg tienen diferentes cantidades de electrolito sodio (Na^+).

B. Prueba post hoc de Tukey para la comparación múltiple de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) con el extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN		DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICACIA	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	-60,82400	,000	-80,9905	-40,6575
	DOSIS 100mg - Na	-85,87600	,000	-106,0425	-65,7095
	DOSIS 200mg - Na	-103,82200	,000	-123,9885	-83,6555
	DOSIS 300mg - Na	-113,66200	,000	-133,8285	-93,4955
	DOSIS 400mg - Na	-78,60200	,000	-98,7685	-58,4355
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	60,82400	,000	40,6575	80,9905
	DOSIS 100mg - Na	-25,05200	,009	-45,2185	-4,8855
	DOSIS 200mg - Na	-42,99800	,000	-63,1645	-22,8315
	DOSIS 300mg - Na	-52,83800	,000	-73,0045	-32,6715
	DOSIS 400mg - Na	-17,77800	,107	-37,9445	2,3885
DOSIS 100mg - Na	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	85,87600	,000	65,7095	106,0425
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	25,05200	,009	4,8855	45,2185
	DOSIS 200mg - Na	-17,94600	,101	-38,1125	2,2205
	DOSIS 300mg - Na	-27,78600	,003	-47,9525	-7,6195
	DOSIS 400mg - Na	7,27400	,870	-12,8925	27,4405
DOSIS 200mg - Na	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	103,82200	,000	83,6555	123,9885
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	42,99800	,000	22,8315	63,1645
	DOSIS 100mg - Na	17,94600	,101	-2,2205	38,1125
	DOSIS 300mg - Na	-9,84000	,662	-30,0065	10,3265
	DOSIS 400mg - Na	25,22000	,009	5,0535	45,3865
DOSIS 300mg - Na	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	113,66200	,000	93,4955	133,8285
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	52,83800	,000	32,6715	73,0045
	DOSIS 100mg - Na	27,78600	,003	7,6195	47,9525
	DOSIS 200mg - Na	9,84000	,662	-10,3265	30,0065
	DOSIS 400mg - Na	35,06000	,000	14,8935	55,2265
DOSIS 400mg - Na	BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	78,60200	,000	58,4355	98,7685
	PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	17,77800	,107	-2,3885	37,9445
	DOSIS 100mg - Na	-7,27400	,870	-27,4405	12,8925
	DOSIS 200mg - Na	-25,22000	,009	-45,3865	-5,0535
	DOSIS 300mg - Na	-35,06000	,000	-55,2265	-14,8935

Tabla 41: Prueba post Hoc o de Tukey del porcentaje de la cantidad de electrolito sodio del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 41**, nos muestra el post test de Tukye, para comparaciones múltiples de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) y extracto seco acuoso a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg, lo cual nos indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del patrón con todas las dosis administradas y la de la dosis de 100 mg/Kg con la de 400 mg/Kg afirmación que se corrobora con el nivel de significancia $p < 0,05$.

C. Prueba de los subconjuntos homogéneos de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) y extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100, 200, 300 y 400 mg/Kg de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05				
		1	2	3	4	5
BLANCO - EXTRACTO ACUOSO - Na	5	31,9380				
PATRÓN - EXTRACTO ACUOSO - Na	5		92,7620			
DOSIS 400mg - Na	5		110,5400	110,5400		
DOSIS 100mg - Na	5			117,8140	117,8140	
DOSIS 200mg - Na	5				135,7600	135,7600
DOSIS 300mg - Na	5					145,6000

Tabla 42: Prueba de subconjuntos homogéneos de la cantidad de electrolito sodio del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

La **tabla 42**, de la prueba se subconjuntos homogéneos, posterior al ANOVA muestra la media de los resultados de la excreción del electrolito sodio (Na⁺) divididos en subconjuntos.

Esta división nos muestra que existen cinco subconjuntos los que están formados por la agrupación de los grupos de experimentación: el subconjunto 2 está formado por promedios de la cantidad de excreción del electrolito Sodio de las dosis de 400 mg/Kg y patrón Furosemida; el subconjunto 3 por las dosis de 100 y 400 mg/Kg de peso; el subconjunto 4 por las dosis de 100 y 200 mg/Kg de peso y el subconjunto 5 por las dosis de 200 y 300 mg/Kg de peso; lo q nos muestra que los grupos de estos subconjunto tienen similar excreción del electrolito Sodio.

D. Gráfica de barras de los promedios obtenidos de los datos experimentales.

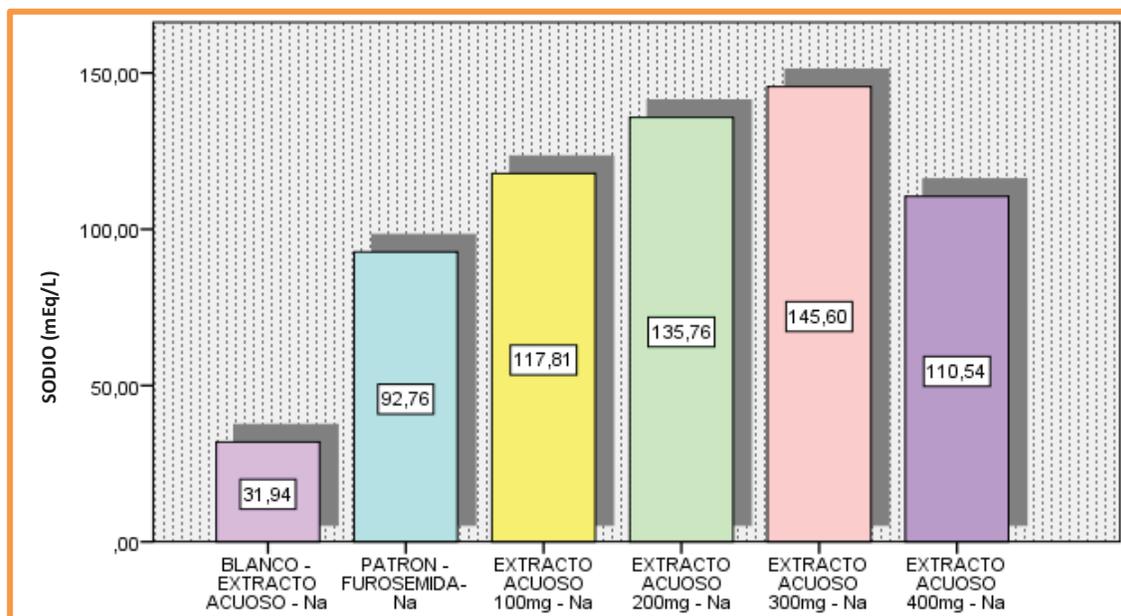


Gráfico 11: Excreción de sodio (mEq/L) del extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 11**, se muestran los promedios obtenidos después de la experimentación, en el cual se puede observar que los promedios obtenidos de la excreción de sodio (Na^+) a dosis 200 mg/Kg y 300 mg/Kg del extracto seco acuoso al 20% son los valores más altos obtenidos los cuales son 135,76mEq/L y 145,60mEq/L respectivamente, en cambio a la dosis administrada de 100mg/Kg del extracto seco acuoso al 20% el promedio obtenido fue de 117,81mEq/L; por tanto, la dosis del extracto seco acuoso al 20% que tiene menor excreción de sodio (Na^+) es la de 400 mg/ Kg ya que este el menor de todos. Además, en comparación con el fármaco patrón (Furosemida) se obtuvieron que los promedios de excreción de sodio (Na^+) del extracto seco acuoso al 20% a todas las dosis son mayores que el promedio obtenido del fármaco patrón (Furosemida), siendo este de 92,76mEq/L.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS:

En el **gráfico 10**, se observa los resultados de la cuantificación de sodio (Na^+) del extracto seco hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y en el **gráfico 11**, los resultados del extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, con los cuales podemos realizar una comparación entre los extractos hidroalcohólico al 70% y el extracto acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y podemos inferir de que: el extractos seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** fue el que reporto resultados superiores de la cantidad de sodio respecto al patrón utilizado siendo este un promedio de 94.39mEq/L.

Maykel (2011); reporto la cantidad de electrolitos sodio (Na^+) en diferentes especies vegetales expresados en mEq/L, los resultados obtenidos fueron: C aurantium L. 34.82, A. cepa L. 42.32, U. baccifera L. 39.66, C. alata L. 22.80, P. americana Miller 42.44, Z. fagara L. 36.19, N coriaceae 17.20, C. pictus D. 32.20. Estos datos son bastante bajos a los obtenidos en la **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**.⁽⁴⁰⁾

4.4. RELACIÓN SODIO – POTASIO

Relación sodio - potasio de los extractos hidroalcohólico y acuoso

EXTRACTO	DOSIS mg/kg	Na ⁺ (mE/L)	K ⁺ (mE/L)	RELACIÓN Na ⁺ / K ⁺
HIDROALCOHÓLICO	100	81.86	25.18	3,25
	200	85.41	29.89	2,85
	300	38.5	29.94	1,28
	400	53.85	13.34	4,03
	FUROSEMIDA	96.02	22.05	4,35
ACUOSO	FUROSEMIDA	92.76	18.64	4,97
	100	117.81	13.46	8,75
	200	135.76	12.58	10,79
	300	145.6	9.51	15,31
	400	110.54	12.31	8,97

Tabla 43: Relación sodio-potasio de los extractos hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

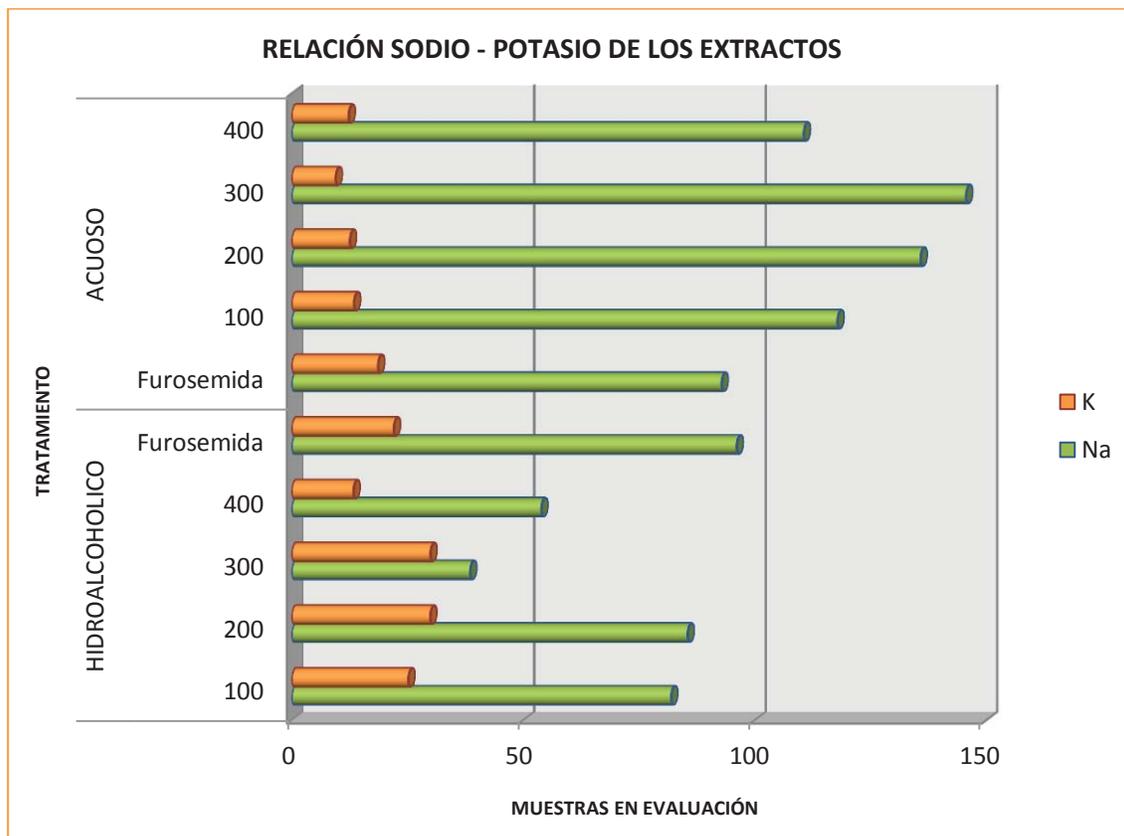


Gráfico 12: Relación sodio - potasio de los extractos hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la **tabla 43 y el gráfico 12**, se observan los datos obtenidos en la cuantificación de sodio (Na^+) y potasio (K^+) los cuales nos sirven para poder clasificarlos en uno de los grupos diuréticos, según la cantidad de electrolitos excretados comparados con el fármaco patrón utilizado (Furosemida) que es un diurético de techo alto o asa. ^{(13) (28)}

Para el extracto seco acuoso al 20% de ***Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)** se obtuvo que para todas las dosis administradas de 100, 200, 300 y 400mg/Kg la excreción del electrolito sodio (Na), fueron superiores a las del fármaco patrón (Furosemida) el cual reportó un valor de 92,96 mEq/L; por tanto podemos clasificar al extracto seco acuoso al 20% de ***Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)** como un diurético de techo alto o diurético asa; a la dosis de 300 mg/Kg se obtuvo una mayor excreción de sodio que fue de 145.6mEq/L y 9.51mEq/L por lo cual podemos utilizarla en tratamientos de hipertensión.

4.5. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

La concentración de flavonoides se determinó siguiendo el método espectrofotométrico de Deutches Arzneibuch, cuantificación de flavonoides totales expresado como Quercetina.

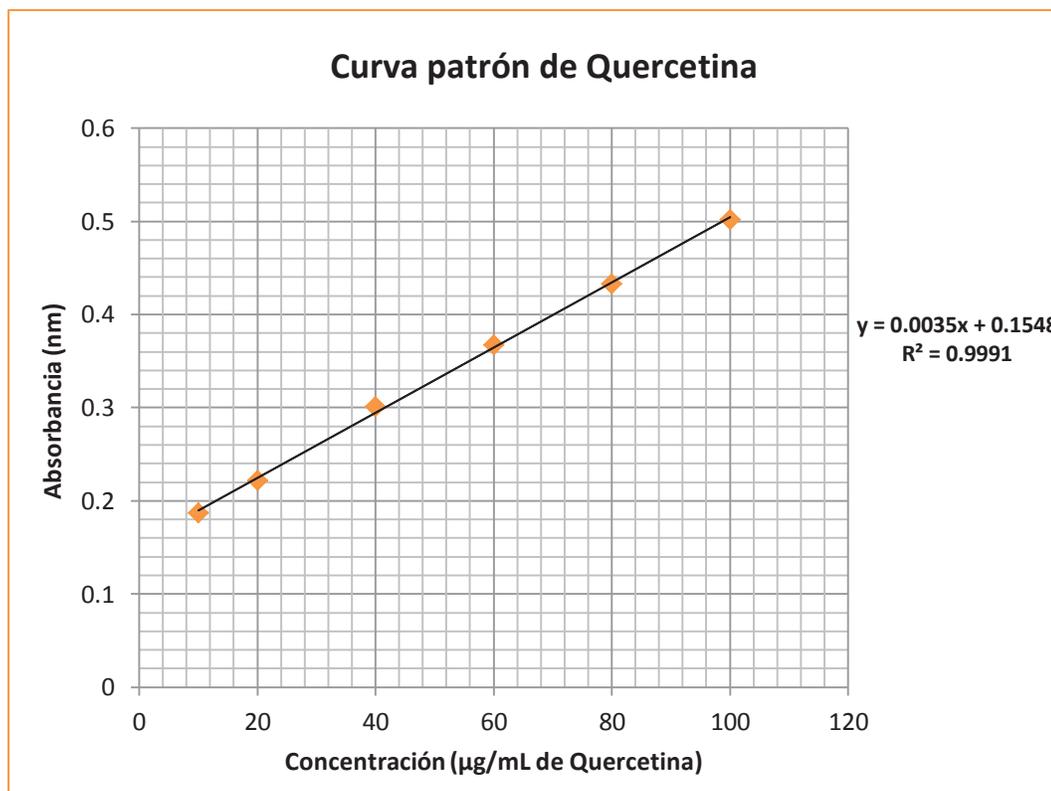


Gráfico 13: Curva patrón de Quercetina.

Fuente: Elaboración propia.

En el **gráfico 13**, se muestra la relación existente entre la absorbancia y la concentración de Quercetina que fue el patrón utilizado para la cuantificación de flavonoides, esta relación entre la absorbancia y la concentración de Quercetina fue linealizada de tal modo que se obtiene la ecuación **$y = 0.0035x + 0.1548$** , la cual nos permite interpolar los resultados obtenidos (absorbancias) de los extractos para así poder obtener el contenido total de flavonoides expresado en miligramos de Quercetina por miligramo de extracto.

Muestra también el valor del coeficiente de determinación (R^2), donde según el análisis estadístico, indica el porcentaje del ajuste que se ha conseguido con el modelo lineal, es decir, el porcentaje de la variación de la absorbancia se explica a través del comportamiento de la concentración de Quercetina; este valor (**$R^2 = 0,9991$**) próximo a uno; consigue explicar el **99,91%** de las variaciones de las absorbancias a través del ajuste por medio de las concentraciones de Quercetina.

Cantidad de flavonoides obtenida para los extractos seco hidroalcohólico y seco acuoso de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

EXTRACTO	CONCENTRACIÓN (µg/ml)	ABSORBANCIA (nm)	CANTIDAD DE FLAVONOIDES (mg Q/ g mp)	PROMEDIO
HIDROALCOHÓLICO	300	0.224	149,33	149.88
		0.226	150,65	
		0.225	149,64	
ACUOSO	300	0.248	165,33	165.47
		0.250	166,67	
		0.247	164,41	

Tabla 44: Cantidad de flavonoides en los extractos hidroalcohólico y acuoso

Fuente: Elaboración propia.

4.5.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CANTIDAD DE FLAVONOIDES.

A. ANOVA de un factor (análisis de la varianza unifactorial) para la comparación de la cantidad de flavonoides relacionando con los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

MUESTRAS	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	ESTADISTICO F-FISHER	SIGNIFICACIA
ENTRE GRUPOS	365,196	1	365,196	411,991	,000
DENTRO DE GRUPOS	3,546	4	,886		
TOTAL	368,742	5			

Tabla 45: Anova de la cantidad de flavonoides del extracto hidroalcohólico y extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 45**, nos muestra el análisis de la varianza (ANOVA), esto para ver si las muestras (extracto seco hidroalcohólico al 70% y extracto seco acuoso al 20%) difieren en la cantidad de flavonoides. La tabla nos muestra el nivel de significancia **p = 0,000** el cual nos indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada una de las muestras, lo que nos indica que extracto seco hidroalcohólico al 70% y extracto seco acuoso al 20% tienen diferentes cantidades de flavonoides.

B. Prueba t de student de la cantidad de flavonoides relacionando con los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork’o Runamanayupa)

GRUPOS DE COMPARACIÓN	DIFERENCIAS EMPAREJADAS		ESTADISTICO T	GRADOS DE LIBERTAD	SIGNIFICACIA
	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR			
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - EXTRACTO ACUOSO	-15,60333	,70444	-38,365	2	,001

Tabla 46: Prueba T student de la cantidad de flavonoides del extracto hidroalcohólico y extracto acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

En la **tabla 46**, se muestra la prueba T de student la cual nos permite comparar medias de las cantidades de flavonoides relacionadas con el extracto seco hidroalcohólico al 70% y extracto seco acuoso al 20% de *Zornia diphylla* (Ork’o Runamanayupa), lo cual indica que:

Existen diferencias estadísticamente significativas del contenido de flavonoides totales entre el extracto seco hidroalcohólico al 70% y extracto seco acuoso al 20%, afirmación que se corrobora con el nivel de significancia **p< 0,05**.

4.5.2. CANTIDAD DE FLAVONOIDES EN DOSIS ADMINISTRADAS.

CONCENTRACIÓN (mg/Kg peso)	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO mg Q	EXTRACTO ACUOSO mg Q
100	49,96	55,15
200	99,92	110,31
300	149,88	165,47
400	199,84	220,62

Tabla 47: Cantidad de flavonoides a las dosis administradas en los extractos hidroalcohólico y acuoso.

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Mayhua (2011), en su trabajo de investigación realizó ensayos en la especie *Trixis divaricata* (H.B.K.) Sprengel. Hank’u chuta reportando el siguiente resultado para flavonoides totales expresados en miligramos de Ácido Gálico por gramo de extracto mgAG/g: 273.45; comparando este resultado con el contenido de flavonoides totales en el extracto seco hidroalcohólico y acuoso de *Zornia diphylla* (Ork’o Runamanayupa) es bajo el contenido de flavonoides.⁽⁸⁾

4.5.3. CANTIDAD DE FLAVONOIDES Y LA RELACIÓN CON EL EFECTO DIURÉTICO

TRATAMIENTO (mg/Kg)	EXTRACTO HIDROALÓHOLICO		EXTRACTO ACUOSO	
	CANTIDAD DE FLAVONOIDES (mg Q)	EXCRECION VOLUMETRICA URINARIA (%)	CANTIDAD DE FLAVONIODES (mg Q)	EXCRECION VOLUMETRICA URINARIA (%)
100	49,96	60.66	55,15	75.24
200	99,92	61.86	110,31	76.25
300	149,88	66.78	165,47	87.78
400	199,84	69.44	220,62	88.27

Tabla 48: Relación del efecto diurético con la cantidad de flavonoides.

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la **tabla 48**, nos muestra la relación existente entre la cantidad de flavonoides y el efecto diurético; se observa que el porcentaje de excreción volumétrica (EVU%) incrementa de acuerdo a las dosis administradas de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y del extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'ó Runamanayupa)**.

En la especie estudiada presentó abundante cantidad de flavonoides y a esto probablemente se le atribuya el efecto diurético, se sabe por bibliografía que a los flavonoides se les atribuye propiedades diuréticas. ⁽¹⁷⁾

Los isoflavonoides como genisteína y daidzeína producen inhibición del cotransporte de Na⁺, K⁺, 2Cl⁻, y aumentan la natriuresis y kaluresis; con el flavonoide crisina también se observó aumento significativo del flujo de orina, filtración glomerular y excreción de Na⁺ y K⁺ el 7 metoxiflavonoides se ligaron de modo activo al receptor de adenosina A1, produciendo antagonismo y consecuentemente diuresis y excreción de sodio.

CONCLUSIONES

1. Se determinó el efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20 % de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** administrado por vía oral en ratas albinas; en la que se encontró que el extracto acuoso presenta mejor efecto diurético respecto al extracto hidroalcohólico y al fármaco patrón (Furosemida).
2. Se determinó el porcentaje de humedad que fue 29.87% de la parte aérea de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**. Se obtuvieron los extractos seco hidroalcohólico al 70% por maceración con un porcentaje de rendimiento de 13.57% y el extracto seco acuoso al 20% por cocción, con un porcentaje de rendimiento de 14.4%.
3. Se realizó el análisis fitoquímico de los extractos:
 - El extracto seco hidroalcohólico al 70% presentó abundante cantidad de metabolitos secundarios como son los alcaloides y taninos, regular cantidad de flavonoides, saponinas, leucoantocianinas y escasa cantidad de compuestos fenólicos y quinonas; también se observó que es muy soluble en solventes polares (agua, metanol, alcohol al 70%) y es insoluble o poco soluble en solventes apolares (acetona y cloroformo).
 - El extracto seco acuoso al 20% presentó abundante cantidad de metabolitos secundarios como son los flavonoides, alcaloides, taninos y leucoantocianinas; regular cantidad de saponinas compuestos fenólicos y quinonas; también se observó que es muy soluble en solventes polares (agua, metanol, alcohol al 70%) y es insoluble o poco soluble en solventes apolares (acetona y cloroformo).
4. Se determinó el efecto diurético de los extractos seco hidroalcohólico al 70% y seco acuoso al 20 % de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** y se encontró que:
 - Para el extracto seco hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** se encontró que a dosis de 300mg/Kg de peso, el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) fue de 66.78%, inferior a la del fármaco patrón (Furosemida) el cual reportó 83.18%.
 - Para el extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg, reportaron valores de porcentaje de excreción volumétrica urinaria (EVU%) de 75.24%, 76.25%, 87.78%, 88.27% respectivamente, estas incrementaron proporcional a las dosis administradas del extracto; y además reportaron valores superiores al fármaco patrón (Furosemida) el cual fue 79.67%.

5. Se determinó la concentración de electrolitos (sodio cloro y potasio) excretados en orina total se obtuvo lo siguiente:
 - Para el extracto seco hidroalcohólico al 70% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** se encontró que a dosis de 100, 200, 300 y 400mg/Kg de peso, la excreción de electrolito sodio (Na^+) se reportaron 81,86 mEq/L, 85,41mEq/L, 38,50mEq/L, 53,85mEq/L, respectivamente; son todas menores a las del fármaco patrón (Furosemida); para la excreción de electrolito potasio (K^+) y cloro (Cl^-) se obtuvo que para las dosis de 100, 200 mg/Kg de peso fueron semejantes a la del fármaco patrón y a las dosis de 300 y 400mg/Kg de peso fueron menores a la del fármaco patrón (Furosemida) el cual reporto para potasio (K^+) 22,05mEq/L y cloro (Cl^-) 115,27mEq/L.
 - Para el extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, se encontró que a dosis de 300 mg/kg de peso, la excreción de electrolitos para sodio fue 145,60mEq/L, potasio 9,51 mEq/L y cloro 155,52 mEq/L siendo la dosis más adecuada y además reportaron valores inferiores al fármaco patrón (Furosemida), cuyos datos son estadísticamente significativos respecto al patrón.

6. Se relacionó la cantidad de electrolitos excretados en la orina con el efecto diurético; para el extracto seco hidroalcohólico al 70% y acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**.

7. La cantidad total de flavonoides obtenidas en el extractos seco hidroalcohólico al 70% y el extracto seco acuoso al 20% de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)** fue de 149.88 mgQ/g mp y 165.47 mgQ/g mp respectivamente, siendo este último el que tiene mayor cantidad de flavonoides.

8. La relación entre el efecto diurético y el contenido de flavonoides totales de **Zornia diphylla (Ork'o Runamanayupa)**, para el extracto seco hidroalcohólico al 70% a dosis de 100 mg/Kg fue de 49,96 mg de Quercetina y dosis de 400 mg/Kg fue de 199,84 mg de Quercetina y para el extracto seco acuoso al 20% a dosis de 100 mg/Kg fue de 55,15 mg de Quercetina y dosis de 400 mg/Kg fue de 220,62 mg de Quercetina, los resultados obtenidos de la cantidad de flavonoides totales de ambos extractos aumentan proporcionalmente a la dosis administrada.

RECOMENDACIONES

A las autoridades de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

- Incentivar la investigación, experimentación, producción y publicación de trabajos por medio de proyectos financiados con el apoyo de convenios interinstitucionales.
- Equipar los laboratorios con instrumentación y reactivos adecuados para facilitar los trabajos de investigación.
- Mayor apoyo a la investigación de los estudiantes y asesoría por especialistas.

A los docentes de Farmacia y Bioquímica

- Comprometerse con las áreas de investigación de la Escuela profesional y así poder realizar un trabajo conjunto.
- Comprometerse en Trabajos multidisciplinarios.

A los alumnos de Farmacia y Bioquímica

- Participar en los grupos de investigación (ARES – UNSAAC) que tenemos en nuestra escuela profesional.
- Valorar el gran potencial de plantas nativas y la medicina tradicional.
- Realizar investigaciones de la diversidad de plantas medicinales que existen en nuestra región.
- Realizar estudios de toxicidad de la especie ***Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)**.
- Realizar formulaciones con extractos, fracciones o metabolitos aislados de la especie ***Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)**

BIBLIOGRAFIA

1. Montes M, Wilkomirsky T, Valenzuela L. Plantas medicinales. 1^a ed. Universidad de Concepción; 1992.
2. Organización mundial de la salud (OMS), Directrices sobre la conservación de plantas medicinales [EN LINEA], 1998 [Consulta: 05 de enero de 2016] Disponible en: <http://www.urosario.edu.co/urosario%20files/57/571bf298-6ad8-4b7f-b43226a6fb78e6de.pdf>
3. Daza P. Resistencia bacteriana y antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información terapéutica del Sistema Nacional de Salud [EN LINEA], 1998 [Consulta: 05 de enero de 2016] Disponible en: <http://www.iscii.es/htdocs/pdf/resistencia.pdf>
4. Organización Mundial de la Salud. Información general sobre la HIPERTENSIÓN en el mundo. Una enfermedad que mata en silencio, una crisis de salud pública mundial. OMS 2013 [EN LINEA] 2013 [Consulta: 04 de enero de 2016] http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/87679/1/WHO_DCO_WHD_2013.2_spa.pdf?ua=1
5. Arestegui I, Sanchez E. Comparación del efecto diurético de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Urtica magellanica* Poir (ortiga) y determinación de electrolitos excretados en orina (sodio, potasio y cloro) en ratas [tesis] Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Facultad de Ciencias de la Salud; 2007.
6. Rang H, Dale M. Rang + Dale Farmacología. 6^a ed. España. Elsevier; 2009.
7. Sodeman W, Sodeman T. Fisiología y Patología de Sodeman: mecanismos de la enfermedad. 4^a ed. U. S. A: W B Saunders Co; 1985.
8. Mayhua G. Capacidad Antioxidante In Vitro y Cuantificación de Flavonoides Totales del Extracto Seco Hidroalcohólico de las Hojas de *Trixis divaricata* (H.B.K.) Sprengel. Hank'u chuta. [tesis] Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Facultad de Ciencias de la Salud; 2011.
9. Ministerio de salud del Perú. Resolución ministerial N° 031-2015 / MINSA. [EN LINEA] Enero 2015 [Consulta: 23 de Julio de 2015]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/documentos/Guias/RM031-2015-MINSA.pdf>
10. Frandson R. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. 1^a ed. México: Interamericana Mc; 1988.
11. Surroz C. Elementos de Anatomía y Fisiología Animal. 4^a ed. Costa Rica: Universidad estatal a distancia San José; 2000.

12. Moreno L, González, Hernández. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18^a ed. España: Médica Panamericana; 2009.
13. Brunton L. Goodman y Gilman las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11^a ed. España: Médica Panamericana; 2006.
14. Skoog, Douglas A, Holler F, Stanley R. Principios de Análisis Instrumental. 6^a ed. México: Edamsa impresiones S.A.; 2008.
15. Espectroscopia de absorción atómica. [EN LINEA] 2010 [Consulta: 22 de marzo de 2015]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/35172981/Espectroscopia-de-Absorcion-Atomica>
16. Espectrometría de absorción atómica. [EN LINEA] 2011 [Consulta: 17 de mayo de 2015] Disponible en: http://www.ancap.com.uy/docs_concursos/ARCHIVOS/2%20LLAMADOS%20FINALIZADOS/2011/REF%2022_2011%20TECNICO%20LABORATORIO%20LUBRICANTES/MATERIAL%20DE%20ESTUDIO/ESPECTROMETRIA.PDF
17. Martínez F, Gonzales J, Tuñón J. Nutrición Hospitalaria. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. España [EN LINEA] [Consulta: 17 de Julio de 2016] Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
18. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones Cultivos Tropicales, vol. 22, 2001, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba [EN LINEA] [Consulta: 17 de Julio de 2016] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>
19. Malgor, Valsecia. Farmacología Renal Drogas Diuréticas. [EN LINEA] 2013 [Consulta: 17 de mayo de 2015] http://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap12_diuret.pdf
20. Horton D. Lo Esencial en Farmacología. 4^a ed. España: Elsevier; 2013.
21. Sánchez M. Hipertensión Arterial e Inflamación: Análisis de Polimorfismos Genéticos y su Correlación Clínica y Biológica. 1^a ed. España: Ediciones Universidad de Salamanca; 2013.
22. Santiago S. Contribución a la Determinación de la Fracción de los Metales Traza Ligados a las Proteínas Similares a las Metaloproteínas en Muestras de Mejillón, Madrid: Universidad de Santiago de Compostela; 2007.
23. Guzmán F. Líquidos y Electrolitos en Cirugía - Fisiopatología Celular y Bioquímica. 1^a ed. Colombia: Editorial Médica Panamericana; 2004.
24. Ayus J, Tejedor A. Agua, Electrolitos y Equilibrio Acido – Base. 1^a ed. España: Editorial Medica panamericana; 2004.

25. Tamayo M. Proceso de la Investigación Científica, México; Limusa, Noriega Editores; 2007.
26. Hernández F, De Alvarado E. Metodología de la investigación – Manual para el desarrollo del personal de salud; Organización Panamericana de Salud PASCAP. 2ª ed. Organización Panamericana de Salud; 1994.
27. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. 1ª ed. España; Editorial síntesis; 1999.
28. Litter M. Compendio de Farmacología. 5ª ed. Argentina; Editorial el Ateneo; 2001
29. Monge A. La Investigación y desarrollo de plantas medicinales. Boletín de la Sociedad Química del Perú. Vol. 63. 1996.
30. Manejo y análisis de datos de investigación: Republica Dominicana; 1983.
31. Diccionario de la real academia 22ª ed. España: S.L.U. Espasa Libros; 2001.
32. Benavides V, Darrigo G, Pino J. Efectos embriotoxicos de *Picrosia longifolia* (Asteracea), Perú; Revista de la Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM, 2001.
33. Daud Thoene A. Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas, Argentina; 2005.
34. Argeri N., Lopardo H. Análisis de Orina Fundamentos y Práctica 1ª ed. Argentina: Editorial panamericana; 1993.
35. Real Farmacopea Española 2ª ed. Madrid: Editorial Nacional del Boletín Oficial del Estado; 2003.
36. Sanchez E & Burkart. A chemical study of Senecio species. Triterpenes from Senecio Burchelli D. C. [EN LINEA] 2001 [Consulta: 18 de Abril de 2016] Disponible en:
http://www.lamolina.edu.pe/Investigacion/web/anales/pdf_anales/MasterAnales-2001-%20VOLUMEN%20XLVII.pdf
37. Neal M. Farmacología medica en esquemas quinta edición, Londres; CTIII servicios gráficos S.A; 2007.
38. Manual de Fitoterapia - Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios, [EN LINEA] [Consulta: 10 de mayo de 2015] Disponible en:
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>
39. Martínez M, MSc. Martínez J, Del Río B, Pérez A, Maceira C, Morales R, Curi H. Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas, Cuba; 2012.

40. Pérez M, Sueiro O, Boffill C, Morón R, Marrero F. Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética, Cuba; 2011.
41. Armas R, Arroyo A, Alfonso V. Actividad diurética del extracto metanolico de hojas de *Passiflora edulis Sims* (maracuyá) en ratas, Cuba; 2011.

ANEXOS

ANEXO N°1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- | | | |
|---|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú • FAX: 238156 - 238173 - 222512 • RECTORADO
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398 | <ul style="list-style-type: none"> • CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226 • CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838 • LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015 | <ul style="list-style-type: none"> • MUSEO INKA
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380 • CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246 • COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192 |
|---|--|---|

EL QUE SUSCRIBE, PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICA:

Que las Señoritas, **Flor Fiorela Caceres Gayoso y Elizabeth Puma Apaza**, alumnas de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Físicas Químicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; han solicitado a la Dirección del Herbario Vargas (CUZ), la determinación taxonómica de una muestra vegetal herborizada, la que al ser diagnosticada utilizando bibliografía especializada y claves dicotómicas, corresponde a las especie: *Zornia diphylla*, cuyas posición taxonómica de acuerdo a Cronquist (1981), compatibilizada con el Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009), es la siguiente:

División	Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase	Rosidae
Super orden	Rosanae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	<i>Zornia</i>
Especie	<i>Zornia diphylla</i> (L.) Pers.

Sinonimias: *Zornia reticulata* Sm. , *Hedysarum conjugatum* Willd. , *H. diphyllum* L. , *Zornia conjugata* (Willd.) Sm. , *Z. diphylla* subsp. *latifolia* (DC.) Benth, *Z. diphylla* var. *latifolia* (Pers.) Benth. , *Z. latifolia* DC. , *Zornia sericea* Moric.

Nombres comunes: "Ork'o manayupa", "Pantay manayupa", "Q'ello manayupa"

Se expide la presente certificación, para los fines de investigación de las recurrentes.

Cusco, 14 abril del 2014



M. C. R. Alfredo Tupayachi Herrera
Prof. Investigador Asociado al Herbario Vargas (CUZ)

ANEXO N°2

FICHA DE INFORMACION ETNOBOTÁNICA – ETNOFARMACOLÓGICA

Nombre:

Edad:.....

Estado civil:.....

Grado De Instrucción:.....

Ocupación:.....

Comunidad:.....
Distrito:.....
Provincia:.....
Departamento:.....

1. ¿Conoce Ud. El uso de las plantas medicinales? SI () NO ()

2. ¿Qué enfermedades presenta su familia?

.....

3. ¿Qué plantas medicinales usa para curar estas enfermedades?

.....

4. Formas de uso que le da a las plantas medicinales

- Emplastos ()
- Mates ()
- Cataplasmas ()
- Macerados ()
- Infusión ()
- Decocción ()

5. ¿Qué partes de esta planta usa?

.....

6. ¿Qué cantidad y que volumen debo consumir al día?

.....

7. ¿Esta planta causa algún otro malestar?

.....

8. ¿Cómo aprendió el uso de la planta medicinal?

.....

Fecha:...../...../.....

ANEXO N°3

FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

PRUEBAS DE SOLUBILIDAD		
Extracto:		
Fecha:		
Solvente	Resultados	Naturaleza del solvente
Hexano		
Benceno		
Éter etílico		
Cloroformo		
Acetato de etilo		
Acetona		
Metanol		
Etanol 70%		
Etanol 90%		
Agua		

LEYENDA:

- (-) : No soluble
- (+) : Poco soluble
- (++) : Soluble
- (+++): Muy soluble

OBSERVACIONES:

.....

.....

ANEXO N°4

PRUEBAS DEL ANALISIS FITOQUIMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO

a) Determinación de azúcares reductores: prueba de Benedict

A 0,5 ml de solución de extracto agregar 0,2 ml del reactivo Benedict, calentar en baño a ebullición por 5 minutos y se deja enfriar. La formación de un precipitado de color rojo ladrillo indicara prueba positiva. ⁽³⁸⁾

b) Determinación Glicósidos

A 200 mg del extracto se le agrega 2 ml HCl al 1 %, refluja por 5 minutos, enfriar y neutralizar NaOH al 1%, luego tratar con carbón activado y filtrar, con porciones de 0,5 ml de la solución, realizar la prueba de Benedict, la formación de un precipitado de color rojo ladrillo indicara prueba positiva. ⁽³⁸⁾

c) Determinación de Aminoácidos: Prueba de Ninhidrina

A 0,5 ml de extracto acidificarlo con HCl al 1% agregar 2-3 gotas de la solución de Ninhidrina al 1%, calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición. Las coloraciones rojizas, violetas o amarillas indican prueba positiva. ⁽³⁸⁾

d) Determinación de Flavonoides: Reacción de Shinoda

A 0,5 ml de extracto, agregar algunas limaduras de Mg metálico más 2-3 gotas de HCl (C), indicaran prueba positiva coloraciones rojizas, tendientes al amarillo o azuladas. Las chalconasauronas, catequinas e isoflavonas no dan prueba positiva. ⁽³⁸⁾

e) Determinación de Compuestos Fenólicos

A 0,5 ml el extracto agregar 1-2 gotas de cloruro férrico al 1% en solución acuosa. La presencia de precipitados o coloraciones azuladas-verdosas indican prueba positiva. ⁽³⁸⁾

f) Determinación de Quinonas

A 0,2 ml de extracto agregar 0,4 ml de ácido sulfúrico concentrado, coloraciones rojizas indica prueba positiva. ⁽³⁸⁾

g) Determinación de Resinas

A 0,2 ml de extracto agregar 2-3 gotas de reactivo acetato de cobre. Una coloración verde esmeralda indica prueba positiva. ⁽³⁸⁾

h) Determinación de Alcaloides

Para realizar la prueba; solubilizar 0,5 g de extracto con HCl 5%, filtrar y finalmente se realiza el siguiente ensayo

- Reacción de Dragendorff
A 0,5 ml de la solución acida agregar 2-3 gotas del reactivo de Dragendorff. La formación de un precipitado naranja o marrón indicara presencia de alcaloides. ⁽³⁸⁾

i) Determinación de Taninos

A 0,5 ml de extracto adicionar 2-3 gotas de cloruro férrico al 1% la aparición de coloración o formación de precipitado indica que la prueba es positiva. La coloración azul oscuro indica la presencia de taninos gálico y una colocación verde la presencia de taninos catequicos. ⁽³⁸⁾

j) Determinación de Saponinas: Prueba de Espuma

Aproximadamente 0,1 g del extracto se solubiliza en 5 ml de agua o en 5 ml de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos. La formación de espuma persiste por 30 minutos, indica la presencia de saponinas. ⁽³⁸⁾

k) Determinación de Lactonas: Prueba de Baljet

Se pone en contacto 200mg de extracto con 2-3 gotas e reactivo (mezcla A y B en volúmenes iguales); una coloración naranja o rojo oscuro indicara prueba positiva.

- Baljet (reactivo A: acido pícrico al 1% en etanol y reactivo B KOH al 10 %) ⁽³⁸⁾

ANEXO N° 5

FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

Lugar:.....

Temperatura ambiente:.....

Fecha:...../...../..... hora:.....

Especie: *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa)

TIPO DE PRUEBA	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70%	EXTRACTO ACUOSO AL 20%
AZUCARES REDUCTORES		
FLAVONOIDES		
COMPUESTOS FENÓLICOS		
QUINONAS		
ALCALOIDES		
ALCALOIDES		
ALCALOIDES		
TANINOS		
SAPONINAS		
ANTOCIANINAS		
LEUCOANTOCIANINAS		

LEYENDA:

- +++ Abundante cantidad
- ++ Regular cantidad
- + Escasa cantidad
- Negativo

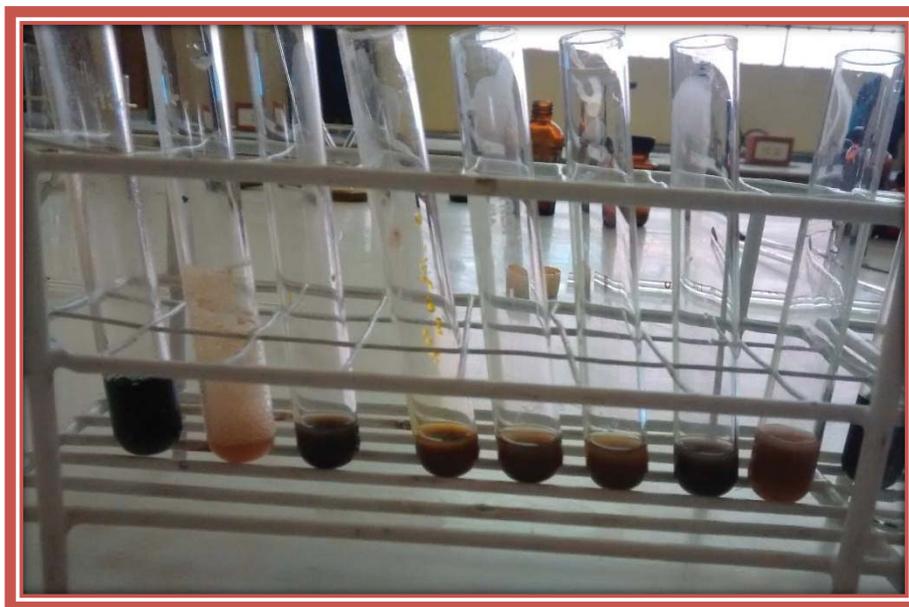
OBSERVACIONES:.....
.....

ANEXO N° 6

FOTOS DE LA INVESTIGACION



FOTOGRAFÍA N° 1: Especie *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa) tomado en la localidad de Suyo – Quinuay – Lares - Calca – Cusco, oct. 2015.



FOTOGRAFÍA N° 2: Identificación fitoquímica cualitativa. Laboratorio del área de farmacognosia – CP Química – UNSAAC.



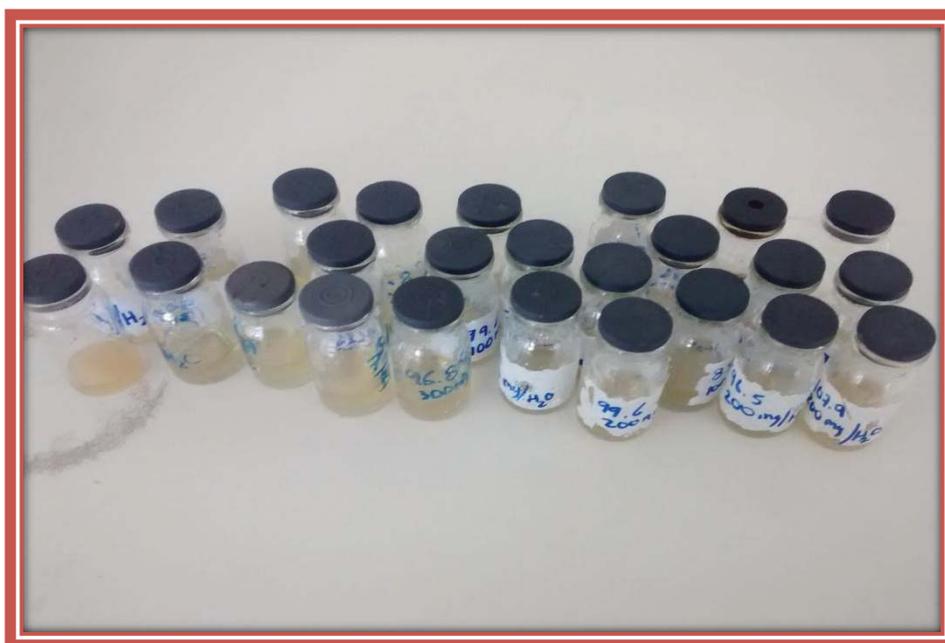
FOTOGRAFÍA N° 3: Pesado de los animales de experimentación (ratas). Laboratorio de área de farmacología y toxicología – CP Farmacia y Bioquímica – UNSAAC.



FOTOGRAFÍA N° 4: Administración Vía oral de los extractos seco hidroalcohólico y acuoso de *Zornia diphylla* (Ork'o Runamanayupa). Laboratorio de área de farmacología y toxicología – CP Farmacia y Bioquímica – UNSAAC.



FOTOGRAFÍA N°5: Animales de experimentación (ratas) distribuidas en jaulas individuales para la recolección de orina. Laboratorio de área de farmacología y toxicología – CP Farmacia y Bioquímica – UNSAAC.



FOTOGRAFÍA N° 6: Orina recolectada durante 6 horas, para su posterior análisis. Laboratorio de área de farmacología y toxicología – CP Farmacia y Bioquímica – UNSAAC.



FOTOGRAFÍA N° 7: Determinación de Na^+ y K^+ por el método de absorción atómica en la orina recolectada de los animales de experimentación. Laboratorio de área de Análisis por Instrumentación – CP Química – UNSAAC.



FOTOGRAFÍA N° 8: Determinación de Cl^- por el método de Mohr en la orina recolectada de los animales de experimentación. Laboratorio de área de Análisis por Instrumentación – CP Química – UNSAAC.



FOTOGRAFÍA N° 9: Determinación cuantitativa de flavonoides totales por espectrofotometría UV de los extractos seco hidroalcohólico y acuoso de *Zornia diphylla* (Ork'ó Runamanayupa). Laboratorio del área de microbiología farmacéutica – CP Farmacia y Bioquímica – UNSAAC.

ANEXO N°7

TABLA DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE EFECTO DIURETICO

Al realizar las pruebas de la actividad diurética y la cuantificación de electrolitos, se pudieron obtener los siguientes resultados.

EXTRACTO	TRATAMIENTO	MUESTRA	VOL. AGUA	VOL. ORINA	MeqK+/L	MeqCl-/L	Meq Na+/L
HIDRALCOHOLICO	BLANCO	1	2.25	1.25	14.15	47.6	26.78
		2	1.96	1.05	14.04	50	35.19
		3	1.75	1.14	12.93	55.26	32.42
		4	2.27	1.45	12.02	53.1	29.96
		5	2	1.3	14.59	45.76	25.42
	PATRÓN (FUROSEMIDA)	6	1.96	1.65	25.64	55.15	97.49
		7	1.91	1.6	20.35	50.31	100.54
		8	2.39	2.05	19.38	51.22	97.56
		9	2.2	1.8	21.37	48.61	92.27
		10	2.25	1.8	23.5	50.55	92.27
	100mg/Kg	11	2.34	1.5	27.35	86.33	80.58
		12	2.7	1.6	26.44	85.31	72.01
		13	2.41	1.4	23.99	87.5	86.34
		14	2.67	1.65	23.31	84.84	81.69
		15	2.06	1.25	24.82	86.8	88.69
	200mg/Kg	16	2.32	1.45	28.29	89.31	79.46
		17	1.97	1.25	37.94	92.4	92.17
		18	2.46	1.5	31.62	91	86.96
		19	2.59	1.6	24.83	83.13	81.52
		20	2.45	1.5	27	86.33	86.96
	300mg/Kg	21	2.3	1.55	9.18	51.94	35.62
		22	2.14	1.5	9.49	53.67	36.81
		23	2.07	1.25	6.87	50.4	41.74
		24	1.9	1.3	6.61	51.15	40.13
		25	2.44	1.65	7.46	48.79	38.21
	400mg/Kg	26	2.18	1.45	11.67	65.17	43.48
		27	2.33	1.65	11.27	61.51	67.19
		28	1.93	1.25	15.89	58.8	46.69
		29	2.04	1.35	14.29	62.22	46.69
		30	2.32	1.7	13.57	63.8	65.22
ACUOSO	BLANCO	31	2.47	1.5	15.38	46.6	31.88
		32	1.83	1.1	11.18	54.09	33.59
		33	2.38	1.4	14.65	47.5	26.39
		34	2.44	1.4	13.27	52.5	31.05
		35	2.16	1.3	15.78	45.76	36.78
	PATRÓN (FUROSEMIDA)	36	2.48	2.1	20.88	51.66	87.58
		37	2.82	2.3	19.96	50.22	87.9
		38	2.16	1.7	15.38	53.53	97.44
		39	2.47	1.9	16.32	44.21	98.86
		40	2.36	1.8	20.66	50.55	92.03
	100mg/Kg	41	2.12	1.4	15.75	67.5	118.32
		42	2.56	1.8	11.03	73.88	102.17
		43	2.46	1.7	13.2	70	108.18
		44	1.92	1.3	11.93	72.69	141.47
		45	2.44	1.7	15.38	65.88	118.93
	200mg/Kg	46	2.56	2	10.73	61.25	144.29
		47	2.69	2.1	14.7	67.66	148.69
		48	2.7	2	9.83	68.05	128.26
		49	2.49	1.9	14.48	70	131.2
		50	2.41	1.8	13.14	65.62	126.36
	300mg/Kg	51	2.36	2.1	10.5	63.33	142.86
		52	2.42	2.1	8.18	58.33	145.96
		53	2.33	2	7.76	61.25	143.48
		54	2.02	1.8	9.82	62.22	138.41
		55	1.93	1.7	11.31	57.65	157.29
	400mg/Kg	56	2.47	2.1	13.55	68.33	105.59
		57	2.49	2.2	12.45	66.66	89.44
		58	2.22	2	11.13	62.63	121.51
		59	2.48	2.2	13.4	73.18	127.47
		60	2.13	1.9	11.04	70	108.69

LEYENDA:

Vol.: Volumen
 Meq K+/L: mili equivalentes de potasio por litro.
 Meq Cl-/L: mili equivalentes de cloro por litro.
 Meq Na+/L: mili equivalentes de sodio por litro.

ANEXO N°8

CÁLCULOS DEL CONTENIDO DE FLAVONOIDES TOTALES

a. Hallando la concentración de muestra problema

0.3 gr. de extracto ----- x mg

1 gr. ----- 1000 mg

X = 300 mg de extracto/ml

b. Hallando la concentración de flavonoides

$$\text{Flavonoides (mg Q/ gr. mp)} = \left(Fc \times \frac{Amp}{Cmp} \right) \times 1000$$

b.1. Hallando el factor de calibración

Solución estándar de Quercetina = 100µg/ml

$$Fc = \frac{\text{concentración del Standart}}{\text{absorbación del Standart}}$$

$$Fc = \frac{100 \mu\text{g/ml}}{0,5 \text{ nm}} \longrightarrow Fc = 200 \mu\text{g/ml.nm}$$

b.2. Hallando la cantidad de flavonoides en los extractos

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

1. ABSORBANCIA N° 1 = 0.224

$$\text{Flavonoides} = \left(200 \times \frac{0,224}{300} \right) \times 1000 \longrightarrow \text{flavonoides} = 149.33 \text{ mg Q/gr.mp}$$

2. ABSORBANCIA N° 1 = 0.226

$$\text{Flavonoides} = \left(200 \times \frac{0,226}{300} \right) \times 1000 \longrightarrow \text{flavonoides} = 150.65 \text{ mg Q/gr.mp}$$

3. ABSORBANCIA N° 1 = 0.225

$$\text{Flavonoides} = \left(200 \times \frac{0,225}{300} \right) \times 1000 \longrightarrow \text{flavonoides} = 149.64 \text{ mg Q/gr.mp}$$

EXTRACTO ACUOSO

1. ABSORBANCIA N° 1 = 0.248

$$\text{Flavonoides} = \left(200 \times \frac{0,248}{300} \right) \times 1000 \longrightarrow \text{flavonoides} = 165.33 \text{ mg Q/gr.mp}$$

2. ABSORBANCIA N° 1 = 0.260

$$\text{Flavonoides} = \left(200 \times \frac{0,250}{300} \right) \times 1000 \longrightarrow \text{flavonoides} = 166.67 \text{ mg Q/gr.mp}$$

3. ABSORBANCIA N° 1 = 0.247

$$\text{Flavonoides} = \left(200 \times \frac{0,247}{300} \right) \times 1000 \longrightarrow \text{flavonoides} = 164.41 \text{ mg Q/gr.mp}$$

CÁLCULOS PARA DETERMINAR LA CANTIDAD DE FLAVONOIDES SEGÚN LA DOSIS ADMINISTRADA

Datos:

Muestra problema = 300 mg

Promedio de la cantidad de flavonoides para el extracto Hidroalcohólico = 149.88 mg Q

Promedio de la cantidad de flavonoides para el extracto Acuoso = 165.47 mg Q

1. PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

a. Dosis 100 mg/Kg

149.88 mg ----- 300 mg

X ----- 100 mg

X = 49.96 mg Q

b. Dosis 200 mg/ Kg

149.88 mg -----300 mg

x ----- 200 mg

x = 99.92 mg Q

c. Dosis 300 mg/ Kg

149.88 mg ----- 300 mg

X ----- 300 mg

X = 149.88 mg Q

d. Dosis 400 mg/ Kg

149.88 mg ----- 300 mg

X ----- 400 mg

X = 199.84 mg Q

2. PARA EL EXTRACTO ACUOSO

a. Dosis 100 mg/ Kg

165.33 mg ----- 300 mg

X ----- 100 mg

X = 55.11 mg Q

b. Dosis 200 mg/ Kg

165.33 mg -----300 mg

x ----- 200 mg

x = 110.22 mg Q

c. Dosis 300 mg/ Kg

165.33 mg ----- 300 mg

X ----- 300 mg

X = 165.33 mg Q

d. Dosis 400 mg/ Kg

165.33 mg ----- 300 mg

X ----- 400 mg

X = 220.44 mg Q

ANEXO N°9

RESUMEN DE ENCUESTAS DE LA FICHA DE INFORMACION ETNOBOTANICA -
ETNOFARMACOLOGICA

