



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

**ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE
LAS HOJAS DE *Asclepia curassavica* (L) (GLOBITO) EN RATAS
ALBINAS HOLTZMAN**

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

AUTORES:

BACH. SOVERO RIVEROS, JOSE LUIS

BACH. APAESTEGUI MANAYAY, ELENA AURORA

ASESOR:

Mg. INOCENTE CAMONES, MIGUEL ANGEL

LIMA – PERÚ

2020

Dedicatoria

Dedicamos el esfuerzo de haber culminado nuestra tesis a Dios, quien nos acompaña día a día, quien guía nuestro camino y nos pone a las personas indicadas en él, quien nos levanta ante cada tropiezo y nos ha permitido llegar hasta donde estamos.

Nuestra tesis también está dedicada con amor y cariño a nuestros padres, por su sacrificio y esfuerzo, por su apoyo incondicional en cada momento complicado, ellos estuvieron brindándonos soporte y comprensión. A nuestros hermanos, quienes nunca nos subestimaron, creyeron en nuestras capacidades y nos alentaron a seguir adelante.

Agradecimiento

En primer lugar, agradecemos a nuestros formadores, personas de gran conocimiento, quienes se han esforzado por ayudarnos en nuestro desarrollo profesional.

A su vez, nuestra tesis debe ser reconocida como una labor conjunta realizada de la mano de nuestro asesor Mg. Miguel Angel Inocente Camones, a quien le estamos infinitamente agradecidos por su gran apoyo.

Hemos logrado concluir con éxito nuestra tesis, la cual en un principio podría parecernos demasiado compleja, el apoyo mutuo que nos hemos brindado a lo largo de este proceso ha sido fuente de motivación e inspiración para poder superarnos cada día más y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor.

Muchas gracias

Índice general

Resumen	7
Abstract	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MATERIALES Y METODOS	15
III. RESULTADOS	20
V. DISCUSIÓN	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	37

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de globito	20
Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de hojas de globito	21
Tabla 3. Actividad diurética, ratas sin ningún tipo de tratamiento (control negativo)	22
Tabla 4. Actividad diurética, ratas tratadas con solución de cloruro de sodio al 0.9% 2,5 ml/kg	22
Tabla 5. Actividad diurética, ratas tratadas con solución de furosemida en dosis de 8 mg/kg	23
Tabla 6. Actividad diurética, ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de globito al 10%	23
Tabla 7. Actividad diurética, ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de globito al 25%	24
Tabla 8. Actividad diurética, ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de globito al 40%	24
Tabla 9. Volumen promedio de diuresis del tratamiento con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Asclepia curassavica</i> L. (globito)	26

Índice de Anexos

	Página
Anexo 1. Matriz de Operacionalización de la variable	37
Anexo 2. Certificación taxonómica	38
Anexo 3. Certificación biológica de animales de experimentación	39
Anexo 4. Imágenes de la investigación	40

Resumen

Objetivo: Demostrar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) por inducción experimental en ratas albinas Holtzman.

Material y método: Así mismo la especie vegetal fue recolectada en el distrito de Coviriali provincia de Satipo Región Junín y transportado bajo las condiciones biológicas de una especie vegetal para su evaluación taxonómica en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se preparó el extracto con 200 g de polvo seco de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) y se maceró en alcohol al 65% por 10 días luego se llevó a estufa hasta peso constante. Se realizó la preparación de dosis en concentraciones con al 10, 25 y 40% con el extracto hidroalcohólico hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) los cuales fueron administrados en ratas albinas Holtzman.

Resultados: La muestra resultó ser soluble en agua destilada y ligeramente soluble en etanol. Los metabolitos secundarios hallados fueron glicósidos, flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos. La actividad farmacológica resultó con diuresis de 4.8 mL, 5.8 mL, 6.23 mL respectivamente y se comparó con una solución de furosemida a 8 mg/kg. Después de las pruebas las ratas fueron eutanizadas.

Conclusiones: Se puede concluir que el extracto hidroalcohólico las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) posee actividad diurética significativa pero menor a la acción de la furosemida.

Palabras clave: *Asclepia curassavica* L., actividad diurética, extracto hidroalcohólico, metabolitos secundarios.

Abstract

Objective: To demonstrate the diuretic activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Asclepia curassavica* L. (balloon) by experimental induction in Holtzman albino rats.

Material and method: The plant species was collected in the district of Coviriali province of Satipo Región Junín and transported under the biological conditions of a plant species for its taxonomic evaluation in the Herbarium of the Museum of Natural History of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos. The extract was prepared with 200 g of dry powder from the leaves of *Asclepia curassavica* L. (balloon) and macerated in 65% alcohol for 10 days, then it was taken to an oven to constant weight. It was carried out the preparation of doses in concentrations with 10, 25 and 40% with the hydroalcoholic extract of leaves of *Asclepia curassavica* L. (balloon) which were administered in Holtzman albino rats.

Results: The sample was soluble in distilled water and slightly soluble in ethanol. The secondary metabolites found were glycosides, flavonoids, alkaloids and phenolic compounds. The pharmacological activity resulted in diuresis of 4.8 mL, 5.8 mL, 6.23 mL respectively and was compared with a solution of furosemide at 8 mg/kg. After the tests, the rats were euthanized.

Conclusions: It can be concluded that the hydroalcoholic extract of *Asclepia curassavica* L. leaves (balloon) has significant diuretic activity but it is less than the action of furosemide.

Keywords: *Asclepia curassavica* L., diuretic activity, hydroalcoholic extract, secondary metabolites.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han constituido desde tiempos remotos un recurso de gran para cubrir las necesidades terapéuticas. Su uso como agentes de la salud es ampliamente conocido en múltiples culturas del mundo y se ha sido transmitido a través de generaciones (1,2).

La Hidropesía, edema o retención de líquido es la acumulación de líquido en los tejidos. No constituye una enfermedad independiente, sino un signo clínico que acompaña a diversas enfermedades del corazón, riñones y aparato digestivo. La hidropesía es la acumulación de líquido en el peritoneo, que se halla en el vientre, aunque también aparece en los tobillos, muñecas, brazos y cuello. Este síntoma es consecuencia de una deficiencia en las funciones digestivas o en las excretoras de los riñones o de la piel de la persona que la padece. Cuando la retención de líquido se produce en el vientre (hidropesía o ascitis), puede ser motivada por tuberculosis, tumores del intestino, tumores del aparato genital femenino, así como por varias enfermedades o alteraciones funcionales del corazón, hígado y riñones. Cuando la acumulación de líquido se da en pies y piernas (edema) se caracteriza por una inflamación típica, aunque sin dar origen a dolores de ningún tipo ni alterar el color habitual de la piel (3).

En consecuencia, el uso de diuréticos sintéticos o naturales como es el caso de nuestro proyecto referente al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) como diurético natural, resulta muy favorable si se tiene el diagnóstico adecuado para un buen tratamiento y seguimiento fármaco terapéutico ya que estos son sustancias que al ser ingeridas provocan una eliminación de agua y electrolitos en el organismo, a través de la orina (3).

La planta que es objeto de nuestro estudio tiene un origen sudamericano, por lo que crece en ecosistemas de temperaturas considerables, con clima templado y con bajísimos niveles de humedad, tanto desde el nivel del mar, como hasta los 2000 msnm. Se le ha ubicado en eriales, en zonas aledañas a domicilios, cunetas y cerca

a riachuelos. También resulta habitual verla en matorrales xerófilos, pastizales artificiales, y bosques montañosos (5).

El látex presenta propiedad bacteriológica, también a la candidiasis, el extracto etanólico de la planta entera actúa contra el *Bacillus subtilis*; en tanto el extracto etanólico del fruto seco y extracto acuoso de la raíz actúan contra el *Staphylococcus aureus*. El tamizaje fitoquímico de diversas partes del vegetal muestra presencia de alcaloides, taninos y glicósidos cardiotónicos. Contiene beta-sitosterol, saponinas (asclapina, curassavina), glicósidos cardenólidos, colatropina, 2-metoxipirazina y flavonoides derivados de la quercetina. (6)

Según la situación problemática descrita se considera como pregunta de investigación:

- ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) presentará actividad diurética en ratas albinas (Holtzman)?

De la pregunta de investigación se derivan las siguientes sub-preguntas:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios se identificarán en el extracto hidroalcohólico?
- ¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico logra la mayor actividad diurética en ratas?

La función principal de los riñones consiste en filtrar los productos metabólicos de desecho y el exceso de sodio y de agua de la sangre, así como facilitar su eliminación del organismo. También ayudan a regular la presión arterial y la producción de glóbulos rojos.

El mal funcionamiento de los riñones muchas veces conlleva a la retención de líquidos, también conocida como edema (2). El edema es el aumento de volumen de líquido en el espacio intersticial, puede tener diversas causas, con características de acuerdo con su origen y fisiopatología, por lo que conocer su origen orientará el tratamiento (3).

El tratamiento farmacológico con diuréticos aumenta la excreción urinaria de agua y electrolitos y se administran para reducir el edema asociado a la insuficiencia cardíaca, el síndrome nefrótico o la cirrosis hepática. Algunos diuréticos se administran a dosis más bajas para reducir la presión arterial elevada. Muchos diuréticos aumentan el volumen de orina por inhibición de la reabsorción de iones de sodio y cloro en el túbulo renal; también modifican el intercambio renal de potasio, calcio, magnesio y urato. Los diuréticos osmóticos actúan de manera distinta; producen un aumento del volumen de orina por un efecto osmótico (7). Aunque los diuréticos de asa son los más potentes, su duración de acción es relativamente corta, mientras que los diuréticos tiazídicos tienen una potencia moderada, pero producen diuresis durante un período más prolongado. Los diuréticos ahorradores de potasio son relativamente débiles. Los inhibidores de la anhidrasa carbónica son diuréticos débiles que raramente son utilizados por su efecto diurético, y se administran principalmente para reducir la presión intraocular en el glaucoma (8).

Godoy C. Et al (2018), se estableció un estudio en una plantación de limón “persa” *Citrus latifolia* en Emiliano Zapata, Villamar, Michoacán, México. Una sección (tratamiento) incluyó la planta *A. curassavica* y la otra se mantuvo sin esa especie (testigo). Muestreos semanales documentaron especies y número de depredadores, fitófagos, parasitoides, y niveles de parasitismo en áfidos. *Toxoptera aurantii*, *Aphis spiraecola*, *Diaphorina citri* y *Phyllocnistis citrella*, fueron las principales plagas. Los resultados muestran una reducción de 46.3% en las poblaciones de áfidos de los cítricos donde se establecieron *Asclepias*; sin embargo, las poblaciones de *D. citri* se incrementaron 77%. Probablemente el mayor biocontrol de áfidos favoreció la disponibilidad de nichos vacíos (brotes vegetativos) y consecuentemente las poblaciones del psílido (13).

Bárbara V. Et al (2016), en este trabajo, los extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de *A. mellodora* y *A. curassavica* se evaluaron por SDS-PAGE para determinar su actividad alexitérica. El estudio in vitro de la capacidad inhibitoria de las actividades proteolítica, hemolítica indirecta y coagulante permitieron determinar que ambas especies manifiestan actividad, siendo *A. mellodora* más activa. Este

resultado está en consonancia con la forma tradicional de su uso como cataplasma. Sobre el extracto etanólico de las raíces de *A. mellodora* se realizó un fraccionamiento bioguiado que permitió identificar fracciones de compuestos responsables de la actividad (13).

Ricciard B. (2016), describió que en el nordeste argentino, *A. mellodora* y *A. curassavica* se utilizan como cataplasmas en accidentes de ofidios.. Estadísticamente los extractos de *A. mellodora* fueron igualmente activos contra el veneno de *Bothrops diporus* y no mostraron diferencias significativas respecto del órgano utilizado en la inhibición de la actividad coagulante (14).

Al-Snafi. Et al (2015), revisó entre sus componentes a los flavonoles, glicósidos, aminoácidos, carbohidratos, triterpenos, cardenólidos y muchos otros compuestos biológicamente activos. Los cardenólidos aislados de la planta incluían calactina, calotropina, calotropagenina, coroglaucigenina, asclepina, asclepaína CI, asclepaína CII, asclepina (asclepiadina), uscaridina, uzarina, uzarigenina, corotoxigenina, asclepogenina, curassavogenina, calotroposido, clepogenina, desglucuzarina, kidjolanina y uscaridina (15).

Raymundo S (2015), en su investigación reveló que su utilidad medicinal se relaciona con la acción cicatrizante y antiescaldauras, para lo cual se tiene que cocer sus raíces, la comunidad Asháninka lo utiliza en la cicatrización de heridas, uta, infecciones vaginales (16).

Hernández P. (2015), en su investigación mencionó que dentro de su género *A. curassavica* es la especie más aprovechada y con mayor número de usos medicinales dentro de los que destacan como estornutatorio, laxante, purgante, emético, anestésico, dermatológico, vermífugo, antiviperino, antiinflamatorio, antihemorroidal y cicatrizante, incluso se le atribuyen propiedades para curar el cáncer y en la actualidad se llevan a cabo estudios para probarla como agente quimioterapéutico, debidas a su composición rica en enzimas proteolíticas (β -D-fucosidasa, fosfatasa, Asclepain ci y cii). La actividad anestésica es dada por los

alcaloides fenantroindolizidicos, ya que muchos de ellos afectan el sistema nervioso central (9).

Macedo R. Et al (2015), el objetivo del estudio fue documentar la posible ocurrencia de envenenamiento por el consumo de *Asclepias curassavica* o de casos agudos de nematodiasis gastrointestinal en ovinos en pastoreo. El estudio de los hábitos de pastoreo en el área en que se presentaron los casos de intoxicación, sólo mostró acercamientos y consumos de *A. curassavica* de tipo exploratorio, mientras que la necropsia mostró un edema generalizado del tejido subcutáneo (anasarca) con atrofia serosa de la grasa y músculos pálidos con mal desarrollo, hidrotórax, hidropericardio, hidroperitoneo y abomaso con presencia abundante de sangre, moco y nematodos del género *Haemonchus contortus* sin evidencias de intoxicación. Se concluye que la muerte de los animales se debió a abomasitis mucohemorrágica severa difusa y edemas generalizados asociados con una hipoproteinemia causados por hemoncosis aguda (26).

Los diuréticos, especialmente las tiazidas en dosis bajas, son ampliamente usados en el tratamiento de la hipertensión por su excelente perfil de seguridad. Los diuréticos también se utilizan en estados edematosos asociados a edemas pulmonares, nefritis, falla cardiaca y edema cerebral (17).

Sin embargo, algunos diuréticos como la furosemida y la hidroclorotiazida presentan efectos secundarios como alcalosis metabólica, reacciones alérgicas, impotencia, desarrollo de diabetes, debilidad, hiperlipidemia, hipopotasemia, etc. Debido a estos efectos adversos de los diuréticos, es necesario seguir buscando nuevos agentes diuréticos que aumenten el arsenal terapéutico y tengan mejor eficacia y seguridad y sean más accesibles económicamente para la población. De manera que, las plantas medicinales constituyen una importante fuente de principios activos, en las zonas rurales, uno de sus usos es como agente diurético. Por lo tanto, es necesario brindar un sustento científico mediante estudios farmacológicos para saber el efecto diurético que permita corroborar los conocimientos populares de la especie en estudio y por ello se decidió realizar este estudio. Por esas razones se propone realizar la presente

investigación con actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las de *Asclepia curassavica* L. (globito) en ratas albinas Holtzman con inducción experimental.

El objetivo general del estudio será:

- Determinar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) en ratas albinas (Holtzman).

La hipótesis del estudio será:

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) presenta actividad diurética en ratas albinas (Holtzman)

II. MATERIALES Y METODOS

2.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El enfoque es cuantitativo y de tipo experimental, porque nos permite manipular la variable independiente en condiciones rigurosamente controladas con el fin de describir en qué modo varía la variable dependiente. Además, será muy importante y obligatorio controlar las variables involucradas de manera rigurosa para saber de qué forma se produce causa y efecto (19).

La presente investigación es diseño experimental, porque se basa en la manipulación intencional de la variable independiente para poder ver el efecto en la variable dependiente con un control de validez interna y externa donde se tendrá un grupo control y cinco grupos experimentales. Los mismos que se medirán a través de pruebas de pretest y post-test y fichas de observación para el registro de los hallazgos (19).

2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

2.2.1. Población

La población vegetal está representada por la especie hojas extracto hidroalcohólico de las de *Asclepia curassavica* L. (globito), serán recolectadas en el distrito de Coviriali provincia de Satipo Región Junín.

La población experimental se realizó con 30 ratas albinas Holtzman de 2 meses de edad, con peso 220 a 250 gramos cada una, obtenidas del Instituto Nacional de Salud.

2.2.2. Muestra

Muestra vegetal: Se utilizaron 300 gramos de las hojas extracto hidroalcohólico de *Asclepia curassavica* L. (globito).

2.2.3. Muestreo

En el presente trabajo de investigación se trabajaron las muestras de hojas extracto hidroalcohólico de *Asclepia curassavica* L. (globito) en 10%, 25%, 40%.

2.3. VARIABLES DE ESTUDIO

2.3.1. Variable independiente

- Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito)

Definición conceptual: Los componentes activos presentes en la especie vegetal presentaran propiedades biológicas muy variadas y suelen aplicarse en terapia de diferentes problemas de salud.

Definición operacional: Los metabolitos secundarios y la prueba de solubilidad.

2.3.2. Variable dependiente

- Actividad Diurética en ratas albinas Holtzman

Definición conceptual: Valoración de la actividad Diurética de diferentes componentes Químicos que sirven de sustento en la investigación para el empleo correcto de los componentes químicos.

Definición operacional: Medición de volumen de orina.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Ficha ad doc. De recolección de datos para la actividad farmacológica, prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y actividad diurética elaborada por los investigadores.

2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.5.1 Pruebas de solubilidad

Se vertieron 20 mg del extracto hidroalcohólico evaporado en 8 tubos de ensayo en una rejilla, a cada tubo de ensayo se agregará solventes de distinto comportamiento químico.

Disolventes: Etanol, metanol, N-hexano, agua destilada, acetona, acetato de etilo, cloroformo y benceno.

2.5.2 Marcha fitoquímica.

- **Reacción con Dragendorff** Se procede con 1 mL de la muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 1 mL de HCl 10% mas 0.5 ml de Dragendorff por lo tanto si la reacción es positiva presenta precipitado de color Naranja.
- **Reacción con Antrona** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) mas 0.5 ml de reactivo de Antrona por lo tanto si la reacción es positiva presenta coloración Verde.
- **Reacción con Fehling** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 0.5 mL de Fehling A más 0.5 ml de Fehling B y luego calentar a baño María por lo tanto si la reacción es positiva presenta coloración Rojo Amarillo.
- **Reacción de Tricloruro Férrico** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 0.5 mL Tricloruro Férrico si la reacción es positiva presenta coloración verde azul.
- **Reacción de Gelatina** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 0.5 mL de Gelatina si la reacción es positiva presenta precipitado denso blanco.

- **Reacción con Shinoda** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 1-2 virutas de Magnesio Metálico más 0.5 mL HCl concentrado. si la reacción es positiva, las flavonas y flavonoides presentan color rojo.
- **Reacción con Rosenheim** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) 0.5 mL de Rosenheim si la reacción es positiva presenta coloración rojo oscuro.
- **Reacción de Ninhidrina** Se procede con 1 mL de muestra de solución de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 0.5 mL de Ninhidrina. luego calentar de 8 a 10 minutos si la reacción es positiva presentara coloración violácea.
- **Reacción con Molish** Se procede con 1 mL de muestra de solución de cola de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) más 0.5 mL Molish y 0.5 ml de H₂SO₄ si la reacción es positiva presenta anillo Violeta.

2.5.3 Actividad diurética en ratas albinas

Se utilizaron 30 ratas albinas de las cepas Holtzman del mismo sexo y edad con un peso corporal entre 220 – 250 gramos. Los animales deben estar sin comida en ayuno y sin agua 18 horas previas al inicio del experimento del ensayo y se debe hidratar a 25 Ratas albinas de cepas Holtzman con cloruro de sodio al 0.9% por vía oral a través de un instrumento llamada cánula orogástrica en una dosis de 2,5 ml/kg de peso corporal. Las ratas albinas cepas Holtzman las cuáles serán puestos en la jaula individualizada apoyado con un soporte universal. Según nuestra proyección después de 20 minutos de la hidratación se les debe pesar para su administración por vía oral el extracto hidroalcohólico de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) y a la vez ser comparados con furosemida. Así mismo luego de 1 hora se debe recolectar la orina por un periodo de 6 horas en una probeta graduada y registrándose el volumen correspondiente para su registro correspondiente y análisis de actividad diurética (23).

Las ratas se deben mantener 10 días calendarios en aclimatización en el bioterio de INDACIPS- Perú en las siguientes condiciones que se mencionaran: Ciclo de luz y oscuridad de 12 horas; temperatura de 19-22 °C monitoreado con un termohigrómetro y una proporción de 5 animales por cada jaula con fondo de rejilla. Así mismo su alimentación de los animales para esta investigación será de Ratina marca La Molina adquiridos en el Instituto nacional de salud (INS) y agua mineral cielo. Para luego se distribuidos aleatoriamente para su proceso experimental (17,18).

2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos serán evaluados utilizando el sistema estadístico SPSS, se evalúa la media y el promedio de los datos para cada una de las muestras, también se empleará ANOVA para determinar la contratación de hipótesis tukey (18).

2.7. ASPECTOS ÉTICOS

En la presente investigación se utilizaron animales de experimentación cumpliendo las normativas éticas y con el apoyo del comité de ética del Instituto INDACIPS sobre la cantidad de animales y el uso adecuado de las dosis sin causar dolor al animal (24,25).

III. RESULTADOS

3.1 De las pruebas de solubilidad

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) fue soluble en solventes polares, principalmente en (metanol y agua) e insoluble en acetona, acetato de etilo, benceno, cloroformo, éter de petróleo n-butanol y n-hexano) (Ver tabla 1)

Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de globito

N°	Reactivos	Extracto
1	Etanol	++
2	Cloroformo	-
3	Éter de petróleo	-
4	N-butanol	-
5	Metanol	+
6	Agua destilada	+++
7	Ciclohexano	-

Leyenda:

Abundante +++

Regular ++

Poco +

Ausencia -

3.2 De la marcha fitoquímica

Tabla 2: Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de globito

METABOLITO	REACTIVOS	RESULTADO
Carbohidratos	Molish	-
	Antrona	-
	Fehling	-
Compuestos Fenólicos	FeCl ₃	-
Taninos	Gelatina	-
Flavonoides	Shinoda	++
Antocianinas y Flavonoides Catéquicos	Rosenheim	-
Aminoácidos Libres y Grupos Amino	Ninhidrina (0.1% en Etanol)	-
Alcaloides	Dragendorff	+++
	Mayer	++
	Bertrand	+
	Sonnenschein	+
Naftaquinonas, Antraquinonas y antranonas	Borntrager	-
Triterpenoides y Esteroides	Lieberman-Burchard	-
Saponinas	Generación de Espuma	-
Glicósidos	Baljet	+
Cumarinas	NH ₄ OH CC ó	-

	NaOH 10%	
--	----------	--

Leyenda:

- (-) Ausencia
- (+) Poco
- (++) Regular
- (+++) Abundante

En la tabla 2, se detallan los resultados de la Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito). La determinación se realizó mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación, dependiendo los grupos químicos presentes, así mismo identificar los metabolitos secundarios con propiedades terapéuticas, responsables de actividad diurética en ratas albinas Holtzman.

3.3 De la actividad diurética en ratas albinas

Tabla 3. Actividad diurética, ratas sin ningún tipo de tratamiento (control Negativo)

N	Peso	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	Promedio
1	260g	4.1 ml	4.0 ml	4.1 ml	4.1 ml	4.2 ml	4.1 ml	4.11 ml
2	261g	4.1 ml	4.2 ml	4.1 ml	4.1 ml	4.0 ml	4.2 ml	4.11 ml
3	261g	4.2 ml	4.2 ml	4.1 ml	4.0 ml	4.1 ml	4.1 ml	4.11 ml
4	262g	4.2 ml	4.0 ml	4.2 ml	4.1 ml	4.0 ml	4.2 ml	4.11 ml
5	261g	4.1 ml	4.2 ml	4.0 ml	4.1 ml	4.1 ml	4.2 ml	4.11 ml

El volumen medio de diuresis en el grupo control negativo reporto 4.11 ml de expulsión de orina.

Tabla 4. Actividad diurética, ratas tratadas con solución de cloruro de sodio al 0.9%, 2,5ml/kg

N	Peso	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	Promedio
1	270g	4.4 ml	4.5 ml	4.4 ml	4.6 ml	4.3 ml	4.4 ml	4.43 ml
2	271g	4.4 ml	4.5 ml	4.5 ml	4.5 ml	4.4 ml	4.3 ml	4.43 ml
3	272g	4.5 ml	4.5 ml	4.4 ml	4.2 ml	4.5 ml	4.5 ml	4.43 ml
4	269g	4.4 ml	4.3 ml	4.2 ml	4.5 ml	4.5 ml	4.3 ml	4.36 ml
5	270g	4.3 ml	4.5 ml	4.5 ml	4.5 ml	4.4 ml	4.2 ml	4.40 ml

El volumen medio de diuresis en el grupo con cloruro de sodio, reporto 4.41 ml de expulsión de orina.

Tabla 5. Actividad diurética, ratas tratadas con solución de furosemida en dosis de 8 mg/kg

N	Peso	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	Promedio
1	270g	6.9ml	6.9ml	6.8ml	6.9ml	6.8ml	6.8ml	6.85 ml
2	269g	6.8ml	6.9ml	6.9ml	6.8ml	6.8ml	6.8ml	6.83 ml
3	270g	6.9ml	6.9ml	6.8ml	6.9ml	6.9ml	6.9ml	6.88 ml
4	270g	6.8ml	6.8ml	6.9ml	6.8ml	6.9ml	6.9ml	6.85 ml
5	271g	6.9ml	6.8ml	6.8ml	6.9ml	6.8ml	6.8ml	6.83 ml

El volumen medio de diuresis con furosemida reporto 6.85 ml de expulsión de orina.

Tabla 6. Actividad diurética, ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de globito al 10%

N	Peso	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	Promedio
1	260g	4.9 ml	4.8 ml	4.9 ml	4.8 ml	4.7 ml	4.7 ml	4.80 ml
2	255g	4.9 ml	4.9 ml	4.9 ml	4.8 ml	4.8 ml	4.8 ml	4.85 ml
3	258g	4.8 ml	4.7 ml	4.8 ml	4.8 ml	4.9 ml	4.8 ml	4.80 ml

4	257g	4.8 ml	4.7 ml	4.8 ml	4.7 ml	4.9 ml	4.6 ml	4.75 ml
5	260g	4.9 ml	4.8 ml	4.8 ml	4.7 ml	4.8 ml	4.8 ml	4.80 ml

El volumen medio de diuresis en el grupo con cloruro de sodio, y con tratamiento del extracto hidroalcohólico de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) al 10% reporto 4.8 ml de expulsión de orina actividad diurética.

Tabla 7. Actividad diurética, ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de globito al 25%

N	Peso	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	Promedio
1	260g	5.9 ml	5.8 ml	5.9 ml	5.8 ml	5.7 ml	5.7 ml	5.80 ml
2	269g	5.8 ml	5.9 ml	5.8 ml	5.8 ml	5.6 ml	5.7 ml	5.76 ml
3	261g	5.8 ml	5.9 ml	5.9 ml	5.8 ml	5.9 ml	5.8 ml	5.85 ml
4	260g	5.8 ml	5.8 ml	5.9 ml	5.7 ml	5.8 ml	5.8 ml	5.80 ml
5	259g	5.8 ml	5.8 ml	5.9 ml	5.7 ml	5.6 ml	5.9 ml	5.78 ml

El volumen medio de diuresis en el grupo con cloruro de sodio, y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) al 25% reporto 5.8 ml de expulsión de orina.

Tabla 8. Actividad diurética, ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de hojas de globito al 40%

N	Peso	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas	Promedio
1	260g	5.9ml	6.1ml	6.2ml	6.4ml	6.6ml	6.7ml	6.32ml

2	261g	5.9ml	5.8ml	5.9ml	5.8ml	6.6ml	6.1ml	6.07ml
3	262g	6.1ml	6ml	6.1ml	6.2ml	6.3ml	6.3ml	6.17ml
4	263g	6.2ml	6.2ml	6.3ml	6.4ml	6.4ml	6.4ml	6.32ml
5	260g	6.2ml	6.3ml	6.3ml	6.3ml	6.6ml	6.3ml	6.33ml

El volumen medio de diuresis en el grupo con cloruro de sodio, y con tratamiento extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) al 40% reporto 6.23 ml de expulsión de orina.

3.4 Contrastación de hipótesis

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) presenta actividad diurética en ratas albinas Holtzman.

- Hipótesis nula: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) **NO** presenta actividad diurética en ratas albinas (holtzman)
- Hipótesis alterna: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) **SI** Presenta actividad Diurética en ratas albinas (holtzman)

Anova de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Factor	41,051	5	8,210	1591,505	0,000
Error	0,186	24	0,005		
Total	41,236	30			

Como el p-valor es menor que 0.05 se puede afirmar que El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) **SI** Presenta actividad diurética en ratas albinas Holtzman.

Tabla 9. Volumen promedio de diuresis del tratamiento con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito).

Combinación	Número de datos	Promedio	Grupo					
Furosemida en dosis de 8 mg/kg	5	6.83 mL	A					
Cloruro de sodio al 0.9%, 2,5ml/Kg y con tratamiento de extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Asclepia curassavica L.</i> (globito) al 40%	5	6.23 mL		B				
Cloruro de sodio al 0.9%, 2,5ml/Kg y con tratamiento extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Asclepia curassavica L.</i> (globito) al 25%	5	5.80 mL			C			
Cloruro de sodio al 0.9%, 2,5ml/Kg y con tratamiento extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Asclepia curassavica L.</i> (globito) al 10%	5	4.80 mL				D		

Inducido con Cloruro de sodio al 0.9%, 2,5ml/Kg sin tratamiento	5	4.41 mL						E
Blanco sin tratamiento	5	3.15 mL						F

IV. DISCUSIÓN

4.1 DISCUSIÓN

El tamizaje fitoquímico de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito), se halló la presencia de alcaloides y flavonoides, relativamente abundantes; este resultado es similar, al estudio del extracto hidroalcohólico de hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito), donde se halló la presencia abundante de flavonoides. Si se compara estos resultados con otras investigaciones, que han evaluado la actividad diurética de diferentes plantas, también evidenciaron en su investigación fitoquímica la presencia de flavonoides (5), obteniendo como resultado, un aumento de la actividad diurética, por lo que los autores, indican que los flavonoides posiblemente tengan efecto en el incremento de diuresis en ratas albina (holtzman). Por lo tanto, la presencia de este compuesto en el extracto de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) es posible responsable objetivo terapéutico de diurética en ratas albinas Holtzman machos (39).

Por otro lado, Jouad (2014), hace un estudio sobre los efectos antihipertensivos y diuréticos de los alcaloides y flavonoides extraídos del extracto de *Spergularia purpurea* donde se le administró, de forma oral, flavonoides a ratas durante una

semana. Lo que demostró la disminución de la presión sanguínea y el aumento de la excreción de orina. Esto evidencia que los alcaloides y flavonoides tienen actividad antihipertensivos y diuréticos.

En el estudio de la actividad diurética de *Celosia argentea* L. (38), se determinó, mediante el tamizaje fitoquímico, que esta planta contiene flavonoides, alcaloides, carbohidratos, taninos. Estos constituyentes fitoquímico, presumiblemente, son los responsables del aumento en la actividad diurética cuando se les administró el extracto por vía oral a ratas albinas. Por lo que según estos estudios podemos presumir que los alcaloides y flavonoides identificados en el extracto acuoso de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) son responsables de la actividad diurética en ratas albinas (holtzman). Los compuestos fenólicos, están conformados por alcaloides y flavonoides.

Según Arroyo (41), los productos 53 ricos en compuestos fenólicos, poseen propiedades farmacológicas hipotensoras, probablemente debido al antagonismo de calcio, resultando un efecto diurético y natriuréticos. Los resultados de la evaluación diurética, evidencia que existe una relación positiva, entre la dosis del extracto de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) y la actividad diurética en ratas, desde la hora 1 hasta la hora 5, de haber realizado el proceso experimental. Si se comparan estos resultados con otras investigaciones, como es el caso de *Morinda citrifolia* (40), que a la dosis de 200 y 400 mg/Kg, excretó el volumen de 30.12 y 34.33 mL respectivamente y *Polylepis australis* (24), presentó como resultados que a la dosis de 200 y 400 mg/Kg se excretó el volumen de 19.75 y 34 mL respectivamente; se puede evidenciar que existe correlación positiva entre la dosis administrada y el efecto diurético evaluado, a mayor dosis mayor en la actividad diurética, estos resultados son similares al compararlo con el extracto de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito).

Así mismo cabe resaltar que no todas las investigaciones realizados sobre la actividad diurética tienen una relación positiva entre la concentración del extracto y la actividad diurética, como es el caso de *Maytenus macrocarpa* (40), el cual a las dosis de 250, 500, 750 y 1000 mg/kg tuvo como resultado 2.3, 3.7, 2.9 y 5.1 ml

respectivamente, por lo observado no tiene correlación positiva entre la dosis administrada y la actividad evaluada, por lo que no se debe generalizar esta acción farmacológica dosis efecto, estos resultados son diferentes al extracto de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) que si tiene una correlación positiva de dosis y actividad diurética.

En la tabla de comparaciones múltiples, el volumen excretado de los grupos experimentales 200 y 400 mg/kg no superaron al grupo control positivo (furosemida) pero si al grupo control negativo (agua destilada), desde la primera como a las 5 horas, estos resultados evidencian la mayor actividad de los extractos frente al grupo control negativo negativo, ya que presentan un volumen promedio de diuresis estadísticamente significativo $p < 0.05$ (diferente). Estos resultados son similares a *Cucumis melo* (48), los cuales, los grupos tratamientos I y II obtuvo como resultado 2.44 y 6.12 ml de excreción urinaria respectivamente, frente a los grupos control positivo I y II que obtuvo valores de 1.5 y 6.12 ml de excreción urinaria respectivamente; con un valor estadísticamente significativo $p < 0.05$ (diferente).

Cabe señalar que no todos los estudios, los grupos experimentales superan al grupo control positivo (diurético estándar), como es el caso de *Ceratopteris pteridoides* (39), donde los grupos experimentales etanólico y acuoso tuvieron como resultado 4.18 y 3.9 ml de orina excretada respectivamente, frente al grupo control furosemida que obtuvo 5.5 ml de orina excretada, a pesar que ambos extractos mostraron un significativo aumento del efecto diurético, $p < 0.05$ (diferente), pero no superaron al grupo control positivo. Los resultados del índice diurético control, es decir, la comparación de los grupos experimentales con el grupo control (solución salina), a las 6 horas tiene un valor de 4.4 y 4.36 para los grupos experimentales 200 y 400 mg/kg, respectivamente; esto significa que el grupo experimental 200 mg/kg tiene un 30 por ciento de mayor efectividad que el grupo control y el grupo experimental 400 mg/kg, tiene un 50 por ciento de mayor efectividad que el grupo control en la producción de orina, sin embargo, el grupo control positivo (furosemida) alcanzó un 70% de efectividad de excreción de orina

respecto al grupo control (solución salina). Si se compara los resultados con otras investigaciones que han evaluado el índice diurético control, se encontraron resultados similares, como podemos mencionar otras investigaciones similares Castillo (39) en su estudio efecto diurético del extracto de *Phyllanthus nirukri*, obtuvo valores de acción diurética de 1.37 para el grupo experimental y 1.10 para el grupo control positivo (hidroclorotiazida), estos resultados no superan a los valores de acción diurética de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) lo que demuestra una mayor efectividad en el incremento de la excreción de orina.

Los resultados del índice diurético control positivo, es decir, la comparación de los grupos experimentales con el grupo control positivo (furosemida), tanto a las 1 como a las 5 horas, tuvo como resultado 4.36 para la dosis de 250 mg/kg y 5.8 para la dosis de 400 mg/kg, que indica un 5.9 por ciento de menor efectividad comparado con la furosemida. Daud (40), en su investigación, actividad diurética de *Polylepis australis*, los grupos experimentales superaron al grupo control positivo (furosemida) con porcentajes de 10 y 90 por ciento en el incremento de la actividad diurética en ratas. Sin embargo, en varios estudios de investigación como por ejemplo, Maykel en su trabajo actividad diurética de *Coctus pictus* se encontró que la excreción del grupo control positivo (furosemida) difiere de manera muy significativa (mayor) en relación a las dosis de los extractos, también Alviz en su trabajo efecto diurético de *Ceratopteris pteridoides*, el grupo control positivo (furosemida) supero a los extractos experimentales con un valor estadísticamente significativo en estas informaciones validamos nuestro proceso experimental en actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito).

4.2 CONCLUSIONES

- Se puede concluir que el extracto hidroalcohólico las hojas de *Asclepia curassavica L.* (globito) posee actividad diurética significativa pero menor a la acción de la furosemida.

4.3 RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con las investigaciones preclínicas y clínicas para implementar el uso de un producto natural con validez científica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Aquire A, et al. Investigación efecto comparativo de furosemida y *Arracacia xanthorrhiza* (*Arracacha*). [Internet]. (2019) [Citado el 06 de junio del 2020]. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4129/Tesis_Aquire%20_Escudero.PDF?sequence=3&isAllowed=y.
- 2.- Goodman E. Las bases farmacológicas terapéuticas undécima edición. 28th ed. Sección 5. [Internet]. (2015) [Citado el 30 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://oncouasd.files.wordpress.com/2015/06/goodman-farmacologia.pdf>
- 3.- Enciclopedia ABC. [Internet]. (2015). [Citado el 10 de junio del 2020]. Disponible en: <https://www.abc.es/hemeroteca/enciclopedia/pagina-9>
- 4.- Flores B, Villegas A. Medigrafica Literatura Biomedica. [Internet]. (2015) [Citado el 18 de junio del 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/medigraphic.cgi>

- 5.- Look O. Métodos en el estudio de productos naturales. Investigación Fitoquímica, Segunda edición. [Internet]. (1994) [Citado el 23 de junio del 2020]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books/about/Invetigacion_Fitoquimica_Metodos_en_e_l_e.html?hl=es&id=N36g2QOccXkC&redir_esc=y
- 6.- Mabberley D. A portable dictionary of plants, their classification and uses. Dictionary of the vascular plants Cambridge university press España. [Internet]. (2015) [Citado el 24 de junio del 2020]. Disponible en: <https://www.Plant-Book-Portable-Dictionary-Vascular-Plants/dp/0521414210>
- 7.- Martin Y. Comprobación de la actividad diurética de una flavona aislada del extracto acuoso de *boldoa purpurascens*. Tesis para optar su título profesional de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. [Internet]. (2016) [Citado el 27 de junio del 2020]. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/705>
- 8.- Sandhu S., Kaur S. Pharmacology and phytochemistry a review. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. [Internet] (2016) [Citado el 25 de junio del 2020]. Disponible en: https://scholar.google.com.pe/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&as_vis=1&q=Sandhu+S.%2C+Kaur+S.+Pharmacology+and+phytochemistry+a+review+Asian+Journal+of+Pharmaceutica+l+and+Clinical+Research.&btnG=
- 9.- Hernández Sampiere R. Metodología de la Investigación. 6th ed. [Internet]. (2017) [Citado el 25 de junio del 2020]. Disponible en: <http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>
- 10.- Katzun B. Farmacología básica y clínica. 11th ed. China: McGraw-Hill. Interamericana. [Internet]. (2015). [Citado 27 de junio del 2020].
- 11.- Hernández P. Actividad antioxidante de *Asclepia curassavica L* en un modelo de cáncer. Tesis doctoral. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. [Internet]. (2015). [Citado el 25 de junio del 2020].

- 12.- Hernández P. Actividad Potencial de antioxidante de *Asclepias curassavica* L., en modelo de cáncer. [Internet]. (2015) [Citado el 02 de julio del 2020]. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_hernandez_ramirez.pdf
- 13.- Godoy C. Potencial de *Aclepias curassavica* L. (*Apocynaceae*) en el control biológico de plagas. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. [Internet]. (2018) [Citado el 02 de julio del 2020]. Disponible en: [Researchgate.net/publication/324469058_Potencial_de_Aclepias_curassavica_L_Apocynaceae_en_el_control_biolo](https://www.researchgate.net/publication/324469058_Potencial_de_Aclepias_curassavica_L_Apocynaceae_en_el_control_biolo).
- 14.- Ricciardi B. Plantas medicinales, venenos, productos naturales, etnofarmacología. [Internet]. (2015) [Citado el 02 de julio del 2020]. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/10977>.
- 15.- Al Snafi A. Componentes químicos y efectos farmacológicos de *Asclepias curassavica*. Revisión Asian J. Pharm. Res. Vol 5, Número 2, 83-87, 2015. [Internet]. (2015) [Citado el 08 de julio del 2020].
- 16.- Raymundo S. Etnobotánica de las especies del monte ribereño en el Río Chira, Sullana, tesis para optar el título profesional de biólogo. Universidad Nacional de Piura. [Internet]. (2015) [Citado el 08 de julio del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/265>.
- 17.- Rubio Manuel, Sánchez Martin. Medicina Estética. España: Editorial Formación Alcalá. [Internet]. (2017). [Citado el 08 de julio del 2020].
- 18.- Argimon JM, Jimenez J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 3ª edición. Madrid: Elsevier. [Internet]. (2004). [Citado el 12 de julio del 2020].
- 19.- Hernandez R. Metodología de la investigación. 5ª edición. México: Mc graw-hill. [Internet]. (1991) [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible: <https://upvv.clavijero.edu.mx/cursos/LEB0742/documentos/Metodologiadelainvestigacion.pdf>
- 20.- OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. 1ª ed. Ginebra. [Internet]. (2005) [Citado el 13 de julio del 2020]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf;js

essionid=B10744734A437A37D1111597F99BF82C?sequence=1

21.- Erazo A. Investigación Efecto diurético de los extractos etanólico y acuoso de *Ilex guayusa loes* (guayusa) en ratas albinas hembras. [Internet]. (2020) [Citado el 16 de julio 2020]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/323347832.pdf>

22.- Bonifaz L. Investigación Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de la *Persea americana Mill* “palta fuerte”. [Internet]. (2018) [Citado el 16 de julio del 2020]. Disponible (<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1863/TITULO%20-%20Mu%C3%B1iz%20Mayta%2C%20Liseth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>)

23.- Manrique C. Evaluación preliminar del efecto neuroprotector de Ratas albinas (holtzman). [Internet]. (2016) [Citado el 16 de julio del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/598/Evaluaci%C3%B3n%20preliminar%20del%20efecto%20neuroprotector%20de%20la%20emulsi%C3%B3n%20LMHE1410%20en%20cerebro%20de%20ratas%20obesas%20Sprague%20Dawley.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

24.- Romero W. Artículo: El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. [Internet]. (2016) [Citado el 22 de julio del 2020]. Disponible en: <https://www.scielo.org/article/rpmesp/2016.v33n2/288-299/>

25.- Fuentes F., Mendoza R., Rosales A., Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Instituto Nacional de Salud (INS). [Internet]. (2008) [Citado el 22 de julio del 2020]. Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/117/CNPB-0002.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

26.- Revista educativa Partesdel.com. Partes de la piel. [Internet]. (2017) [Citado el 25 de julio del 2020] Disponible en: https://www.partesdel.com/partes_de_la_piel.html

27.- Almirall fell the sciencie. Agresiones superficiales en la piel [Internet]. (2017) [Citado el 25 de julio del 2020]. Disponible en: <https://blastoactiva.com/agresiones-superficiales/>

- 28.- Ministerio de Salud, Gobierno del Perú. Plantas Medicinales [Sede Web] Lima- Perú. [Internet]. (2016) [Citado el 25 de julio del 2020]. Disponible desde: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional/plantas-medicinales>.
- 29.- Salud-intercultural: Plantas Medicinales. [Sede Web]. [Internet]. (2016) [Citado el 30 de julio del 2020]. Disponible desde: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional/plantas-medicinales>.
- 30.- Infosalud. Noticias de salud, enfermedades y nutrición. [Sede Web]. [Internet]. (2015) [Citado el 30 de julio del 2020]. Disponible en: <https://www.infosalus.com/salud-investigacion/noticia-respuesta-lesiones-puede-dificultarcicatrizacion-pacientes-diabetes-20150616083133.html>.
- 31.- Hernández P. Actividad antioxidante de *Asclepia curassavica L.* en un modelo de cáncer. [Tesis doctoral]. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. [Internet]. (2015) [Citado el 04 de Agosto del 2020]. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_hernandez_ramirez.pdf
- 32.-Fernández B. Uso de las especies del género *Asclepias L.* (Apocynaceae, Asclepiadoideae), información del Herbario Nacional de México, MEXU. [Internet]. (2018) [Citado el 04 de Agosto del 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682008000100012
- 33.- Fundesyran.com [Sede web]. Lima- Perú. Centro de Recursos para la Transferencia Tecnológica ITACAB. [Internet]. [Citado el 16 de Agosto del 2020]. Disponible en: <http://www.fundesyr.com/biblioteca.php?id=205>
- 34.- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. México: UMAN. [Internet]. (2019) [Citado el 16 de Agosto del 2020]. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>
- 35.- Rubio M., Sánchez M. Medicina Estética. España: Editorial Formación Alcalá. [Internet]. (2017) [Citado el 16 de Agosto del 2020]. Disponible en: <https://Medicina-est%C3%A9tica-abordajes-tratamientos-actuales-ebook/dp/B06Y25SK2X>

- 36.- Martínez J, et al. Fisiología General. La piel Estructura y función [Sede Web]. [Internet]. (2018) [Citado el 18 de Agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.martiderm.es/blog/smart-aging/piel/estructura-y-funcion-de-la-piel/5>
- 37.- Anibal A. Efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (hook) en ratas normales. Biomédica. [Internet]. (2015) [Citado el 18 de Agosto del 2020]. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/611>
- 38.- Daud A., Habib N., Sanchez A. Actividad diurética de extracto acuoso de *Polylepis australis bitter* (queñoa). Revista cubana Plantas medicinales. [Internet]. (2017) [Citado el 18 de Agosto del 2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962007000400007
- 39.- Maykel P. Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. [Internet]. (2015). [Citado el 26 de Agosto del 2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002011000300004
- 40.- Maykel P, et al. Actividad diurética de una decocción de *Costos pictus D. Don*. Revista cubana plantas medicinales. [Internet]. (2015) [Citado el 26 de Agosto del 2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962010000200002&lng=es&nrm=iso

ANEXOS

Anexo 01. Matriz de Operacionalizacion de variables

OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE								
VARIABLE	Tipo de variable según su naturaleza y escala de medición	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	Nº DE ITEMS	VALOR FINAL	CRITERIOS PARA ASIGNAR VALORES
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Asclepias curassavica</i> L. (globito)	Independiente Nominal	Los componentes activos presentes en la especie vegetal presentaran propiedades biológicas muy variadas y suelen aplicarse en terapia de diferentes problemas de salud.	Metabolitos secundarios	Análisis fitoquímico	<ul style="list-style-type: none"> - Fenólicos - Taninos - Alcaloides - Flavonoides - <u>Cumarinas</u> - Azúcares 	4	(-) Ausencia (+) Escaso (++) Moderado (+++) Abundante	Catagórico
Actividad Diurética	Dependiente Nominal	Valoración de la actividad Diurética de diferentes componentes Químicos que sirven de sustento en la investigación para el empleo correcto de los componentes químicos.	Diuresis	Medición de volumen de orina	Concentración necesaria para el efecto diurético	1 ítems	% de eficacia	Catagórico

Anexo 02. Certificación Taxonómica



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 055-USM-2020



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

CERTIFICADO SANITARIO N° 299 - 2019

Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-45-2019
Especie	: <i>Mus musculus</i>	Cantidad	: 30
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 2 meses
Peso	: Mayor a 25 g.	Sexo	: macho
Guías de remisión	: 038326	Destino	: Baldeón Sevillano, Melva.
Chorrillos	: 06 - 11 - 2019		

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

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

Chorrillos, 06 de noviembre del 2019

(Fecha de emisión del certificado)


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

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

TURAL,
 TANCIA

S Luis
 lidad
 omic
 tema

JUE

Anexo 04. Ficha de Validación de datos

Anexo 04. Imágenes de la Investigación



Fuente los Investigadores. Extracto libre de humedad de hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito)



Fuente los Investigadores. Procesando las pruebas de solubilidad.



Fuente los Investigadores. Reacción en pruebas de solubilidad.



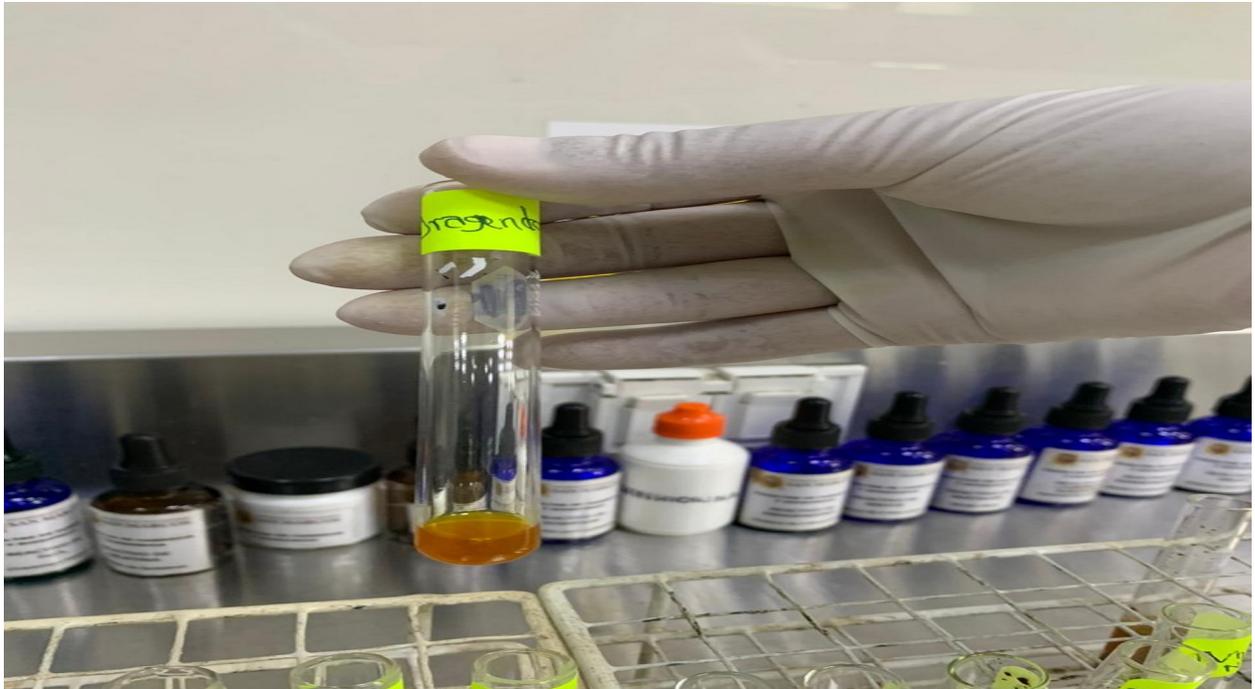
Fuente los Investigadores. Resultados de pruebas de solubilidad.



Fuente los Investigadores. Reactivos de las pruebas de solubilidad.



Fuente los Investigadores. Rotulando los materiales.



Fuente los Investigadores. Observando reacción fitoquímica.



Fuente los Investigadores. En proceso de agitación en la marcha fitoquímica.

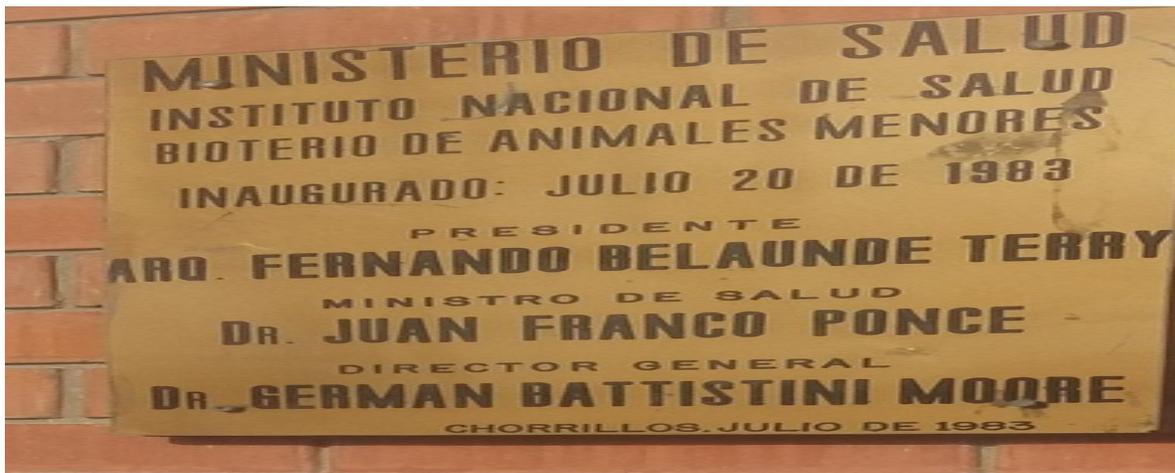


Fuente los Investigadores. Observando reacción de la marcha fitoquímica.



Fuente los Investigadores. Proceso de marcha fitoquímica.

Fuente los Investigadores. Resultados de marcha fitoquímica.



Fuente los Investigadores. Instituto Nacional de Salud (INS).



Fuente los Investigadores. En la compra de las ratas albinas Instituto Nacional de Salud (INS)



Fuente los Investigadores. Ratas albinas en aclimatación de noche.

Fuente los Investigadores. Ratas albinas en aclimatación de día.



Fuente los Investigadores. Inyectando el tratamiento con cánula orogástrica.



Fuente los Investigadores. Investigador pesando las ratas.

Fuente los Investigadores. Peso de ratas albinas (holtzman)

Fuente los Investigadores. Observando la recolección de actividad diurética.



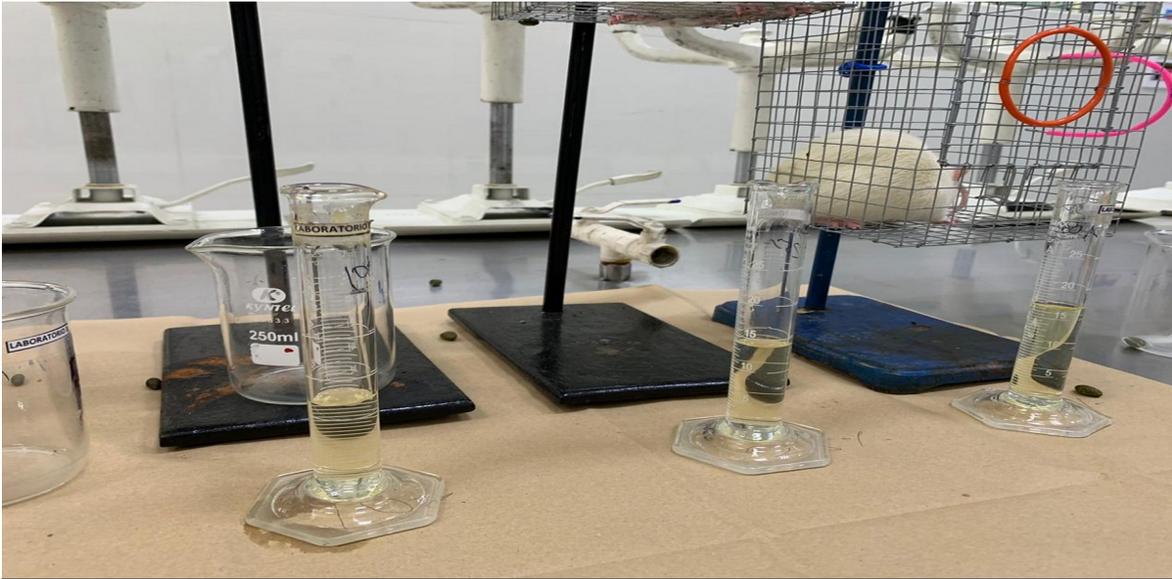
Fuente los Investigadores. Investigadora recolectando la actividad diurética.



Fuente los Investigadores. Recolectando la actividad diurética.



Fuente los Investigadores. Investigador Observando el comportamiento durante el proceso de recolección de Orina de las ratas albinas (holtzman)



Fuente los Investigadores. Resultado de actividad diurética.



Fuente los Investigadores. Vertiendo del vaso de donde se recolecto la diuresis para su cuantificación.



Fuente los Investigadores. Medida de Volumen de Orina de ratas albinas (hotlzman)



Fuente los Investigadores. Observando resultando de actividad diurética.



Fuente los Investigadores. Ratas albinas en el Bioterio Indacips.