



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL JUGO DE CAÑA  
AGRIA (*Costus spicatus*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”**

**TESIS DE GRADO**  
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: HUMBELINA JUDITH COLOMA DEL POZO**

**Riobamba – Ecuador**

**2015**



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL JUGO DE CAÑA  
AGRIA (*Costus spicatus*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*)”**

**TESIS DE GRADO**  
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** HUMBELINA JUDITH COLOMA DEL POZO

**TUTOR:** BQF. GERMAN TOAPANTA

**Riobamba – Ecuador**

**2015**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “Evaluación de la actividad diurética del jugo de Caña agria (*Costus spicatus*) en ratas (*Rattus norvegicus*)”, de responsabilidad de señorita egresada Humbelina Judith Coloma del Pozo, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Cecilia Veloz  
**DECANA FAC. CIENCIAS**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Dr. Félix Andueza  
**DIRECTOR DE ESCUELA**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

B.Q.F. German Toapanta  
**DIRECTOR DE TESIS**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

|

Dra. Elizabeth Escudero  
**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Dra. María Macas  
**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**COORDINADOR**  
**SISBB – ESPOCH**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo, (Humbelina Judith Coloma del Pozo), soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

**HUMBELINA JUDITH COLOMA DEL POZO**

## **DEDICATORIA**

A DIOS, por su amor incondicional a mis padres, hermanos, familia, y amigos que han hecho posible esta etapa de mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por la gran contribución en la formación Académica y Profesional.

A la Escuela de Bioquímica y Farmacia de manera en especial a aquellos maestros, que supieron impartir sus conocimientos, y su sabiduría.

A el B.Q.F. German Toapanta por su invaluable colaboración como director de tesis para la culminación de este proyecto.

A la Dra. Elizabeth Escudero por su valiosa colaboración como Miembro del Tribunal de Tesis por el gran aporte brindado en la ejecución de este trabajo.

A todas aquellas personas que colaboraron de alguna manera, para la culminación con éxito de este trabajo de investigación.

## INDICE GENERAL

<b>CONTENIDO</b>	<i>Paginas</i>
<b>RESUMEN</b> <i>xii</i>	
<b>SUMMARY</b> .....	<i>xiii</i>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<i>1</i>
<b>CAPITULO I</b>	
<b>1. MARCO TÉORICO</b> .....	<i>3</i>
<b>1.1.1. Importancia del uso de plantas medicinales</b> .....	<i>3</i>
<b>1.2. Diuresis</b> .....	<i>5</i>
<b>1.3. Medicamentos esenciales</b> .....	<i>5</i>
<b>1.3.1. Fármaco diurético</b> .....	<i>6</i>
<b>1.4. La hipertensión arterial (HTA)</b> .....	<i>10</i>
<b>1.5. Edema</b> .....	<i>11</i>
<b>1.5.1. Tipos de edema según su origen:</b> .....	<i>11</i>
<b>1.5.2. Tipos de edema según su extensión:</b> .....	<i>11</i>
<b>1.5.3. Tipos de edema según su localización.</b> .....	<i>11</i>
<b>1.6. Desequilibrio electrolítico</b> .....	<i>11</i>
<b>1.7. Estudio fitoquímico</b> .....	<i>12</i>
<b>1.8. Compuestos polifenólicos</b> .....	<i>14</i>
<b>1.8.1. Flavonoides</b> .....	<i>14</i>
<b>1.8.2. Aspectos químicos</b> .....	<i>14</i>
<b>1.8. Fuentes naturales</b> .....	<i>15</i>
<b>1.8.3. Propiedades</b> .....	<i>15</i>
<b>1.9. Cromatografía en capa fina (CCF)</b> .....	<i>16</i>
<b>1.10. Espectrometría uv-vis</b> .....	<i>16</i>
<b>1.10.1. Espectro ultravioleta-visible</b> .....	<i>16</i>
<b>1.11. Animales de experimentación</b> .....	<i>17</i>
<b>1.11.1 Ratas de laboratorio</b> .....	<i>18</i>
<b>1.11.2. Manipulación de las ratas</b> .....	<i>18</i>
<b>1.11.3. Vías de administración.</b> .....	<i>19</i>
<b>1.12. Caña agria (<i>Costus spicatus</i>)</b> .....	<i>20</i>
<b>1.12.1. Botánica y ecología.</b> .....	<i>20</i>
<b>1.12.2. Etnobotánica y antropología.</b> .....	<i>21</i>
<b>1.12.3. Fitoquímica y farmacología</b> .....	<i>21</i>
<b>1.12.4. Forma de empleo</b> .....	<i>21</i>

1.12.5.	<i>Usos medicinales</i> .....	21
1.12.6.	<i>Posología y recetas</i> .....	22
<b>CAPITULO II</b>		
2.	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	23
2.1	<b>Lugar de investigación</b> .....	23
2.2	<b>Materiales, equipos y reactivos.</b> .....	23
2.2.1	<b>Materia prima</b> .....	23
2.2.2	<b>Material biológico</b> .....	23
2.2.3	<b>Equipos</b> .....	24
2.2.4	<b>Materiales de laboratorio</b> .....	24
2.2.5	<b>Reactivos</b> .....	25
2.3	<b>Métodos y técnicas</b> .....	26
2.3.1	<b>Comprobación e identificación taxonómica</b> .....	26
2.3.2	<b>Recolección del material vegetal: muestreo</b> .....	26
2.3.4	<b>Preparación de extracto</b> .....	26
2.3.5	<b>Parámetros de control de calidad</b> .....	27
2.3.5.1	<b>Parámetros de calidad del extracto de caña agria</b> .....	29
2.3.6	<b>Estudio químico cualitativo tamizaje fitoquímico del extracto de caña agria</b> ...	30
2.3.6.1	<b>Ensayo de dragendorff</b> .....	32
2.3.6.2	<b>Ensayo de wagner</b> .....	33
2.3.6.3	<b>Ensayo de mayer</b> .....	33
2.3.6.4	<b>Ensayo de liberman –buchard</b> .....	33
2.3.6.5	<b>Ensayo de borntrager</b> .....	33
2.3.6.6	<b>Ensayo de baljet</b> .....	34
2.3.6.7	<b>Ensayo de sudan iii.</b> .....	34
2.3.6.8	<b>Ensayo de catequinas.</b> .....	34
2.3.6.9	<b>Ensayo de resinas</b> .....	34
2.3.6.10	<b>Ensayo de espuma</b> .....	34
2.3.6.11	<b>Ensayo del cloruro férrico.</b> .....	35
2.3.6.12	<b>Ensayo de ninhidrina</b> .....	35
2.3.6.13	<b>Ensayo de shinoda</b> .....	35
2.3.6.14	<b>Ensayo de antocianidinas</b> .....	36
2.3.6.15	<b>Ensayo de fehling</b> .....	36
2.3.7	<b>Análisis cromatográfico del marcador químico</b> .....	36
2.3.8	<b>Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales (método del AlCl<sub>3</sub>) expresados como rutina</b> .....	37
2.3.9	<b>Evaluación de la actividad diurética del extracto del tallo de caña agria (Costus</b>	

	<i>spicatus</i> ).....	39
2.3.9.1	Protocolo farmacológico .....	39
2.3.10.	Determinación de electrolitos $Na^+$ , $K^+$ mediante el analizador AVL 9380.	41
2.3.11.	Ensayo de toxicidad aguda .....	42
2.3.11.1.	Diseño experimental.....	42
2.3.12.	Análisis estadístico .....	42
<b>CAPÍTULO III</b>		
3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	44
3.1	Control de calidad del vegetal crudo, cañotes de caña agria.....	44
3.2	Control de calidad del extracto de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ). .....	45
3.2.1	Determinación de requisitos organolépticas del jugo de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ).....	45
3.2.2	Determinación de los parámetros físico- químicos .....	45
3.3	Tamizaje fitoquímico .....	46
3.4	Análisis cromatográfico.....	47
3.4.1	Análisis cromatográfico de flavonoides.....	47
3.5	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales expresado como Porcentaje de rutina.....	47
3.6	Evaluación de la actividad diurética del jugo de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ) en ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	49
3.6.2	Análisis estadístico .....	54
3.6.3	Electrolitos urinario .....	56
3.7	Evaluación de la toxicidad aguda del extracto de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ).....	57
<b>CONCLUSIONES</b> .....		60
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		61
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

OMS	Organización Mundial de la salud
MSP	Ministerio de Salud Pública
ANOVA	Análisis de Varianza
°C	Grado Celsius
RF	Factor de retención
Kg	Kilogramos
g	Gramos
ml	Mililitros
Mg	Miligramos
CA	Caña agria
L	Litros
%	Porcentaje
V	Volumen
$\eta$	Índice de refracción
Nº	Numero
ANOVA	Análisis de Varianzas
GC+	Grupo control positivo
h	Horas
VO	Vía oral
SF	Suero fisiológico
HTA	Hipertensión arterial

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro1-3:</b>	Control de calidad de la materia prima caña agria( <i>Costus spicatus</i> ).....	44
<b>Cuadro 2-3:</b>	Control de calidad del extracto de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ).....	45
<b>Cuadro 3-3:</b>	Determinación de los parámetros físico- químicos .....	45
<b>Cuadro 4-3:</b>	Resultados decalidad cualitativa (tamizaje fitoquímico) de caña agria( <i>Costus spicatus</i> ). .....	46
<b>Cuadro 5-3:</b>	Determinación de flavonoides según su Rf en cromatografía de capa fina del jugo de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> )”. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Abril 2015.....	47
<b>Cuadro 6-3:</b>	Resultados de la medición de absorbancia en el jugo de caña agria( <i>Costus spicatus</i> ).....	48
<b>Cuadro 7-3:</b>	Determinación de concentración deflavonoides totales de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ). Laboratorio de química instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Abril. 2015. ....	49
<b>Cuadro 8-3:</b>	Resultados promedio del ensayo farmacológico de diuresis a diferentes concentraciones de jugo de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ).....	49
<b>Cuadro 9-3:</b>	Cálculo del volumen deexcreción urinaria para cada uno de las concentraciones.....	51
<b>Cuadro 10-3:</b>	Porcentaje de diuresis respecto al blanco del extracto de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ) a sus diferentes concentraciones. ....	52
<b>Cuadro 11-3:</b>	Porcentaje de diuresis respecto al control positivo furosemida (20 mg/Kg peso) de jugo de caña agria( <i>Costus spicatus</i> ) a sus diferentes concentraciones.....	53
<b>Cuadro12-3:</b>	Análisis estadístico de los tratamiento utilizados en el ensayo farmacológico de la actividad diurética de jugo de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ) .....	55
<b>Cuadro 13-3:</b>	Análisis de varianza para los volúmenes promedio finales de cada tratamiento.....	56
<b>Cuadro 14-3:</b>	Análisis de comparaciones múltiples (test de tukey), para los volúmenes promedio finales de cada tratamiento.....	56

<b>Cuadro 15-3:</b>	Resultados de efecto farmacológico sobre algunos indicadores urinarios en ratas.....	56
<b>Cuadro 16-3:</b>	Parámetros evaluados en la toxicidad aguda .....	58
<b>Cuadro 17-3:</b>	Valores obtenidos de la medición del peso en gramos durante el análisis de toxicidad aguda (dosis repetida) .....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Estructura básica de los flavonoides .....	14
<b>Figura 1-2:</b>	Procedimiento para obtención de extractos .....	30
<b>Figura 3-2:</b>	Esquema de las reacciones, realizadas en el extracto de éter etílico.....	31
<b>Figura 4-2:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico .....	31
<b>Figura 5-2:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso .....	32
<b>Figura 6-2:</b>	Reacción de quelación del ión $Al^{3+}$ con los flavonoides.....	37

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla1-1:</b> CO3B diuréticos de techo bajo, excl. tiazidas; CO3BA <i>sulfonamidas, mono drogas</i> .....	6
<b>Tabla2-1:</b> CO3Cdiuréticos de techo alto, CO3CA <i>sulfonamidas, mono drogas</i> .....	6
<b>Tabla3-1:</b> CO3D <i>agentes ahorradores de potasio, CO3D4 antagonistas de la aldosterona</i> .....	6
<b>Tabla4-1:</b> Valoresde absorción de los diferentes tipos de flavonoides. ....	17
<b>Tabla5-1:</b> Volumen máximo permitido en administración por cada vía.....	20
<b>Tabla6-1:</b> Clasificación científica de caña agria( <i>Costus spicatus</i> ).....	20
<b>Tabla1-2:</b> Definición de los grupos por extractos .....	39
<b>Tabla2-2:</b> Evaluación farmacológica .....	39
<b>Tabla3-2:</b> Denominación de grupos para la investigación .....	40

## ÍNDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen 1- 1:</b> Ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	18
<b>Imagen 2- 1 :</b> Planta de Caña Agria ( <i>Costus spicatus</i> ).....	20

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A:</b>	Materia prima.....	67
<b>Anexo B:</b>	Cuantificación .....	67
<b>Anexo C:</b>	Cromatografía .....	68
<b>Anexo D:</b>	Extractos .....	69
<b>Anexo E:</b>	Evaluación farmacológica .....	69
<b>Anexo F:</b>	Administración .....	70
<b>Anexo G:</b>	Determinación de electrolitos .....	70

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Curva de calibración de rutina .....	48
<b>Gráfico 2-3:</b>	Volúmenes (ml) de orina durante cada h por seis horas de los diferentes grupos .....	50
<b>Gráfico 3-3:</b>	Promedio de los volúmenes (ml) al final del ensayo de diuresis a diferentes concentraciones del extracto de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ). .....	51
<b>Gráfico 4-3:</b>	Porcentaje de volumen de excreción de cada uno de los grupos. ....	52
<b>Gráfico 5-3:</b>	Porcentaje de diuresis respecto al blanco del extracto de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ). A sus diferentes concentraciones. ....	53
<b>Gráfico 6-3:</b>	Porcentaje de diuresis respecto al control positivo furose-mida (20 mg/kg peso) de jugo de caña agria ( <i>Costus spicatus</i> ). A sus diferentes concentraciones. ....	54
<b>Gráfico 7-3:</b>	Análisis del volumen final de los tratamientos .....	55
<b>Gráfico 8-3:</b>	Concentración de Na <sup>+</sup> (meq/l) de cada uno de los tratamientos. ....	57
<b>Gráfico 9-3:</b>	Concentración de K <sup>+</sup> (meq/l) de cada uno de los tratamientos. ....	57
<b>Gráfico 10-3:</b>	Pesos de las ratas durante el análisis de toxicidad aguda. ....	59

## RESUMEN

La evaluación de la actividad diurética del jugo de caña agria (*Costus spicatus*) utilizando el extracto de los tallos para el efecto diurético en *Rattus norvegicus* con pesos promedio de 270 g tratadas en jaulas metabólicas, a través del método experimental de Nail y Col. Se realizó un estudio preclínico, el análisis fitoquímico preliminar incluyó: tamizaje fitoquímico, análisis cromatográfico y flavonoides totales. Se evaluó el efecto diurético del jugo de caña agria (*Costus spicatus*) administrando vía oro faríngea, usando ratas en 5 lotes para los grupos experimentales de los tratamientos al 20, 60 y 80 % del jugo de caña agria (*Costus spicatus*) y los grupos control con cloruro de sodio y furosemida. La cuantificación de flavonoides totales por el método del  $AlCl_3$  dio 0.56 % de flavonoides. La identificación del posible metabolito se realizó por cromatografía en capa fina, con el solvente cloroformo – acetona – ácido fórmico (75:16.5:8.5). Determinando la presencia de Kaempferol. La diuresis del Blanco es 2 ml, el control positivo (furosemida) da 6 ml, los tratamientos al 20 %, 60 %, 80 %, de jugo de caña agria (*Costus spicatus*) dan 2.03; 2.70; 5; ml de orina respectivamente. Se concluye que con el jugo de caña agria al 80 %, presento una diuresis similar a la furosemida, corroborando el uso tradicional como diurético no electrolítico. Extracto no toxico. Por lo que se recomienda continuar con el estudio para determinar si la actividad diurética atribuida a la misma se encuentra presente en otras partes de la planta.

**Palabras claves:** <CAÑA AGRIA [*Costus spicatus*]> <DIURÉTICO> <FITOTERAPIA>  
<PLANTAS MEDICINALES> <FUROSEMIDA> <ACTIVIDAD DIURÉTICA >  
<CLORURO DE SODIO > <FLAVONOIDES TOTALES >

## SUMMARY

The evaluation of the diuretic activity of the juice of sour cane (*Costus Spicatus*), it was taken in the Phytochemical Laboratories, Vivarium and Instrumental of the Faculty of Sciences of ESPOCH by using the extract of the branches for the diuretic effect in *Rattus norvegicus* with the average weights of 270 g treated in metabolic cages, through the experimental method of Nail and Col. It was made a pre-clinic study, the preliminary phytochemical analysis included: phytochemical screening, chromatographic analysis and total flavonoids. The diuretic effect of the juice of sour cane was evaluated (*Costus Spicatus*) administering via oro-pharyngeal, using rats in 5 lots for the experimental groups of treatments to 20, 60, and 80 % of juice of sour cane (*Costus Spicatus*) and the control groups with the Sodium Chloride and Furosemide. The quantification of the total flavonoids by the method  $AlCl_3$  gave as a result 0.56 % of flavonoids. The identification of the possible metabolites was made by layer chromatography, with the solvent chloroform – acetone- formic acid (75:16.5:8.5). Being determined the presence of Kaempferol; the diuresis of the white is 2ml, the positive control (furosemide) gives 6 ml, the 20%, 60%, 80% , of the sugar of sour cane (*Costus Spicatus*) gives 2.03; 2.70; 5ml of urine respectively. It was concluded that with the juice of sour cane, to 80 % presented a similar diuresis to the furosemide corroborating the traditional usage as non-electrolytic diuretic activity is attributed to the same which is present in other parts of the plant.

**Key Words** :< SOUR CANE (*Costus Spicatus*)> <DIURETIC> <PHYTOTHERATY>  
<MEDICINAL PLANTS> <FUROSEMIDE> <DIUETIC ACTIVITY> <SODIUM CHLORIDE> <TOTAL FLAVONOIDS>

## INTRODUCCIÓN

El uso de plantas con fines curativos surge desde tiempos remotos, siendo las plantas el único arsenal terapéutico de la época (GRANDA, 1982, p8). Especialmente, al desarrollarse la química dentro de las ciencias, freno el uso de las plantas medicinales, ya que éstas comenzaron a ser sustituidas por diversos fármacos obtenidos por síntesis química. Últimamente, se ha retomado nuevamente su empleo, ya que muchos estudios realizados por diversos investigadores han demostrado que las plantas pueden ser tan efectivas como los medicamentos sintéticos, demostrando grandes ventajas con relación a estos (GARCIA. 1995, p22). Así la ciencia estudia nuevos principios activos investigando sus efectos en forma de: infusión, tintura, extracto, cocimiento etc. Retornando la mirada esperanzada a las plantas.

Sin embargo también los fitofármacos pueden llegar a presentar efectos secundarios desagradables y peligrosos, aunque en menor grado.

La organización Mundial de la Salud (OMS) ha determinado que alrededor del 80 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional para atender las necesidades primarias de asistencia médica, la OMS acordó promocionar la medicina tradicional y establecer pautas para la identificación de medicamentos herbarios que sean inocuos y eficaces.

En 1978, la OMS define la integración de los remedios tradicionales de eficacia comprobada en las políticas farmacéuticas y reglamentación de los países, correspondiéndoles a los Ministerios de Salud la aprobación de los remedios vegetales y la prohibición del uso de aquellos peligrosos.

En 1989, se reconoce la importancia de los medicamentos herbarios en la salud de los individuos y de las comunidades, por lo que se establece que los países, necesitan de información actualizadas y autorizada sobre las propiedades beneficiosas y posibles efectos de los medicamentos herbarios. (OMS. 1989, p 56)

Existen dos mercados para las plantas medicinales: la industria farmacéutica, donde las materias primas son procesadas y los principios activos incluidos en preparaciones más complejas; y el comercio popular, donde las materias primas son vendidas en su estado natural o son procesadas de forma sencilla para jarabes, polvos y otros. (NUÑEZ, J.2005, p 13)

Las plantas diuréticas: son las que actúan como antisépticas, diuréticas y ayudan en los problemas como retención de líquidos, infecciones de las vías urinarias y cálculos renales. (OLAYA, M., MENDEZ, A.2003. p 18).

Los diuréticos, directa o indirectamente pueden modificar iones como  $\text{Ca}^{++}$ , P y  $\text{Mg}^{++}$  y alterar funciones: cardiovasculares, endocrina, hepático y renal. De ahí que se utilicen también en otras enfermedades: hipertensión arterial, falla cardíaca congestiva, ascitis, edema, las hipercalcemias, la diabetes insípida, el glaucoma, las intoxicaciones, etc. La hidroclorotiazida y furosemida se relacionan con un desbalance de electrolitos, diabetes, activación del sistema renina-angiotensina y disminución de la función sexual. Por lo cual hace imprescindible la búsqueda de nuevos diuréticos, potencialmente menos tóxicos.

La Caña agria es útil en afecciones e inflamaciones de las vías urinarias y para la eliminación de cálculos renales. Se recomienda su uso en caso de nefritis, cálculos urinarios e inflamación de la vejiga (cistitis), aumenta la menstruación cuando es escasa (Emenagoga), es calmante de dolores menstruales (dismenorrea). Otros usos importantes se da por su actividad Diurética; además de aumentar la producción de orina y por la eliminación de sustancias de desecho. (HERNANDEZ, I. 2012. p 12)

Los resultados del presente estudio permitirán un mayor conocimiento del efecto diurético de esta planta, de manera que se contribuirá con información a los pacientes que lo usan en sus tratamientos además se genera evidencia de la composición química.

Con este tipo de investigación se pretende evaluar la actividad diurética de caña agria (*Costus spicatus*), atribuida a uno de sus componentes el kaempferol (Flavonoide), empleando un modelo experimental en ratas, usando furosemida como control positivo de referencia para actividad diurética, se administrara a diferentes concentraciones el extracto de caña a los grupos experimentales, y mediante niveles de eliminación de orina, y determinación de electrolitos por el método del ion selectivo, determinar la actividad farmacológica.

## CAPITULO I

### 1.1 MARCO TÉORICO

#### 1.1 Bases teóricas

##### *1.1.1. Importancia del uso de plantas medicinales*

Los recursos genéticos vegetales con propiedades medicinales pueden contribuir a los servicios modernos de salud y a la producción de productos farmacéuticos de diferentes modos (OLDFIELD, 1981. p 20).

Gracias a la tradición oral y escrita sobre la medicina popular se sabe que el hombre desde tiempo inmemorial ha conocido y aplicado la actividad curativa de un sinnúmero de hierbas. A pesar de los adelantos en la producción de la medicina “moderna”, las plantas medicinales no han perdido su importancia. Por el contrario, el desarrollo de los medicamentos modernos ha sido resultado de formas cada vez más complejas de aprovechar las plantas medicinales, y su producción sigue dependiendo en gran parte del uso de estas plantas como materia prima.(HOOGESTEGER, C.1994. p 28).

Para la Organización Mundial de la Salud (OMS), rescatar el conocimiento sobre el uso de plantas en la medicina tradicional es una alternativa para la atención primaria, sobre todo en los países en vías de desarrollo.

El avance de la ciencia y la tecnología en el campo de la industria farmacéutica y la medicina no han logrado dar soluciones a enfermedades incurables como el cáncer, el SIDA y otras que afectan a la población mundial. Por ello, el conocimiento de la medicina tradicional y el uso de plantas medicinales han recuperado un lugar importante como fuente de información. (PONZ, E.2005. p 32).

##### *1.1.1. Plantas medicinales con acción diurética*

En la fitoterapia, como terapia alternativa a los fármacos sintéticos se utilizan varias plantas medicinales cuyos extractos pueden provocar diuresis y cuya composición química se ha relacionado con dicho efecto.

La acción diurética en las plantas medicinales puede ser originada por principios activos de naturaleza química muy variada. Comúnmente, la presencia de varios de estos principios activos en la misma planta son los responsables de su acción diurética, aunque no está claro el nivel de contribución de cada uno de ellos a la actividad diurética total. (PÉREZ, M. y otros. 2011. p 28)

De manera general, las plantas con propiedades diuréticas se clasifican desde el punto de vista químico en:

**Drogas con saponósidos:** que tienen propiedades tensoactivas y conllevan a un aumento de la permeabilidad de la membrana filtrante glomerular acompañado de una congestión local.

**Drogas con flavonoides:** afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello integrado por el efecto vasoprotector capilarotropo que mejora la microcirculación a nivel de todo el organismo.

**Drogas con bases xánticas:** son de específico interés en el edema cardíaco.

**Drogas con glúcidos:** algunos aumentan la diuresis por mecanismos osmóticos (manitol) y otros inhiben la reabsorción activa de  $\text{Na}^+$  en el túbulo proximal, actuando como natriurético.

En cuanto a su mecanismo de acción, parece ser que algunos aceites esenciales, saponósidos y flavonoides podrían operar a nivel glomerular más que a nivel tubular, estimulando un aumento de la circulación renal e incrementando así la tasa de filtración glomerular y la formación de orina primera, el efecto obtenido sería, por tanto, una acuarexis.

La determinación del cociente  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , el mismo constituye un indicador de gran beneficio, pues ayuda a orientar el mecanismo de acción diurético. (PÉREZ, M. y otros. 2011. p 28)

#### *1.1.2.1. Indicaciones*

El uso de plantas medicinales con actividad diurética está especialmente beneficioso en los siguientes casos:

- En afecciones bacterianas e inflamatorias de la pelvis renal y de las vías urinarias bajas.
- En la prevención y tratamiento de cálculos urinarios

- En infecciones de las vías urinarias, en el tratamiento con citostáticos y en caso de hipertensión arterial.
- En los procedimientos de adelgazamiento. (LOPEZ, M. p 19)

## 1.2. Diuresis

La diuresis nos muestra la cantidad de orina secretada y su análisis cualitativo. Estudia el contenido en la orina de: los iones, el agua, los compuestos orgánicos, las bacterias, los procesos de fabricación, de transporte, de almacenamiento y de eliminación de la orina así como asimismo el débito urinario. La diuresis estudia el aparato urinario en su conjunto formado por los riñones, los uréteres, la vejiga y la uretra. La diuresis puede ser escasa en caso de oliguria o anuria, o también excesiva en caso de poliuria. (KIOSKEA. 2014 p 25)

En el caso de afecciones renales, la diuresis se ve perturbada:

- Poliuria : diuresis superior a 2,5 l diarios
- Oliguria : diuresis inferior a 600 ml diarios
- Anuria : diuresis nula o inferior a 100 ml diarios
- Diuresis osmótica
- Diuresis hídrica

### 1.2.2. *Protocolos farmacológicos donde se utiliza los diuréticos*

Los diuréticos se han convertido en un grupo de fármacos de uso cotidiano en casi todas las ramas de la medicina siendo, los fármacos antihipertensivos más antiguos y continúan siendo uno de los grupos de mayor beneficio, habitualmente bien tolerados a dosis bajas. Además, los diuréticos son los agentes de elección en las asociaciones de fármacos antihipertensivos. Con las dosis recomendadas en la actualidad (12,5-25 mg/día). Habitualmente se elige una tiazida, Los pacientes mayores con HTA sistólica aislada y diabetes obtienen un beneficio especial con este tipo de tratamiento. Los diuréticos son fármacos básicos en el manejo de la insuficiencia cardíaca solo cuando aparecen edemas o síntomas secundarios a la congestión pulmonar (disnea, ortopnea). Indicación posible de diuréticos: Diabetes insípida, y en la Osteoporosis los diuréticos actúan al reducir el índice de excreción urinaria de calcio, efecto temporal.

## 1.3. Medicamentos esenciales

Diuréticos

## CÓDIGO C

### DESCRIPCIÓN SISTEMA CARDIOVASCULAR

#### CO3 DIURÉTICOS

**Tabla 1-1:**CO3B diuréticos de techo bajo, EXLC. Tiazidas; CO3BA Sulfonamidas, mono drogas

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	FORMA FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	VÍA DE ADMINISTRACIÓN
CO3B404	CLORTALIDOA	Sólido oral	25 mg Y 50 mg	O

Fuente: (CNMB 9ª Edición, Ecuador)

**Tabla 2-1:**CO3C diuréticos de techo alto, CO3CA Sulfonamidas, mono drogas

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	FORMA FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	VÍA DE ADMINISTRACIÓN
CO3CA01	furosemida	Sólido Oral Líquido parenteral	40 mg 10 mg/ml	O P

Fuente:(CNMB 9ª Edición, Ecuador)

**Tabla 3-1:**CO3D agentes ahorradores de potasio, CO3D4 Antagonistas de la aldosterona

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	FORMA FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	VÍA DE ADMINISTRACIÓN
C03D401	Espironolactona	Sólido oral	25 mg y 100 mg	O

Fuente:(CNMB 9ª Edición, Ecuador)

#### 1.3.1. *Fármaco diurético*

Son medicamentos que provocan la excreción renal de agua y electrolitos, como consecuencia de su acción turbulenta sobre el transporte iónico a lo largo de la nefrona. Esta interferencia puede llevarse a cabo en uno o algunos sitios del recorrido tubular, pero la acción en un sitio más proximal puede ser proporcionada a nivel más distal o liberar mecanismos compensadores que contrarresten la acción inicial.

Su objetivo esencial es conseguir un balance negativo de agua, pero los diuréticos no actúan directamente sobre el agua, sino a través del sodio (diuréticosnatriuréticos) o de la osmolaridad (diuréticos osmóticos). Por ello, el propósito principal de los diuréticos se dirige al tratamiento de los edemas. Cada segmento de la nefrona posee en su epitelio mecanismos especializados en el transporte de determinados iones; por lo tanto, la acción del diurético en un segmento determinado provocará un patrón característico de eliminación de agua y electrolitos. Y,

viceversa, a partir de un patrón de eliminación iónica se puede deducir, al menos de manera aproximada, el segmento donde el diurético actúa. (FLÓREZ, J., ARMIJO, A. 2008 p 815)

### **1.3.2. Clasificación de drogas diuréticas**

#### **a) Diuréticos inhibidores de la reabsorción de sodio (saluréticos o natriuréticos)**

Diuréticos tiazídicos: Desde el punto de vista terapéutico son los diuréticos más importantes. Su uso es amplio en el tratamiento de todos los síndromes edematosos, en la hipertensión arterial, en la diabetes insípida y en la hipercalciuria con litiasis cálcica recurrente.

**Química:** Son compuestos Sulfamídicos aromáticos derivados de las Benzotiadiazinas. Los derivados análogos solo difieren en potencia farmacológica o en su vida media u otros parámetros farmacocinéticos, no obstante en su respuesta diurética óptima.

**Mecanismo de acción:** Los diuréticos Tiazídicos como muchos ácidos orgánicos débiles, se secretan activamente en la Parte recta del túbulo contorneado proximal. Los diuréticos tiazídicos ejercen su acción de inhibición de la reabsorción tubular de sodio desde el fluido tubular, al que se incorporan por ese mecanismo. (APESTEGUÍA, I. 2009. p 10)

#### **b) Diuréticos de alta eficacia**

Furosemida, Bumetanida, y Ácido Etacrínico, tienen una intensidad diurética mucho mayor que las Tiazidas. Su acción emprende antes de los 30 minutos por vía oral, y su duración es relativamente leve, de 4-6 horas.

**Química:** La furosemida, es un derivado del ácido antranílico; el ácido etacrínico del ácido arilacético y la bumetanida del ácido 3-aminobenzoico.

**Mecanismo de acción:** Los diuréticos de alta eficacia, o llamados también diuréticos del asa, actúan inhibiendo la reabsorción tubular del Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, en el 12 segmento medular y cortical de la rama ascendente gruesa del asa de Henle. La acción se relaciona con una inhibición de la enzima Na-KATPasa. Estos diuréticos, aumentan definitivamente la excreción de sodio, cloruro, potasio, y agua. Se presentan efectos secundarios menos frecuentes como erupción cutánea, aplasia de médula ósea, pancreatitis, acufenos, vértigo, sordera, agranulocitosis y fotosensibilidad. (APESTEGUÍA, I. 2009. p 11)

### **c) Diuréticos ahorradores de potasio.**

**Espironolactona:** Es un antagonista competitivo de la aldosterona. El bloqueo de la acción de la aldosterona en el túbulo distal, y túbulo contorneado produce, (al contrario de la aldosterona), un aumento de la excreción de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, y una disminución de la eliminación de potasio, hidrógeno, y amonio. El efecto de la Espironolactona, solo es evidente en presencia de aldosterona; Útil en el tratamiento del edema del síndrome nefrótico, o de la cirrosis hepática, que cursan con altos niveles de aldosterona.

**Farmacocinética:** Se absorbe bien por vía oral la Espironolactona. Tolera una importante metabolización en su primer paso por el hígado, ligada a las proteínas plasmáticas transita ampliamente.

**Amilorida y triamtirene:** Estos poseen una moderada acción natriurética, diurética y un importante efecto ahorrador de potasio. Químicamente son bases orgánicas. El Triamtirene es una Pteridina y la Amilorida un derivado de la Pirazina. Su mecanismo de acción se desarrolla en el Túbulo, colector, segmento cortical, que es el sitio de mayor eliminación de potasio, tanto por transporte activo como pasivo. Estos agentes producen una disminución de la reabsorción de sodio en el fluido colector. Así eliminando moderadamente sodio, cloro y agua y se retiene potasio.

**Farmacocinética:** Amilorida y Triamtirene se administran por vía oral, usualmente en combinación con Hidroclorotiazidas u otras Tiazidas. El Triamtireno se liga a proteínas plasmáticas en un 60% y se metaboliza ampliamente en el hígado. La Amilorida circula casi libremente en el plasma y no se metaboliza, eliminándose en forma inalterada. Sus metabolitos se secretan activamente en el túbulo proximal, por el mecanismo de los cationes orgánicos.

Los efectos adversos son hiponatremia, acidosis metabólica, debilidad muscular, impotencia, cefalea, trastornos gastrointestinales, y con menor frecuencia, fotosensibilidad y anafilaxia.(APESTEGUÍA, I.2009. p 12).

### **d) Diuréticos osmóticos**

**Mecanismo de acción:** Los diuréticos osmóticos (Manitol al 15-20 %, y Úrea), son sustancias que en solución son marcadamente hipertónicas. Al administrarse por vía intravenosa, filtran por el glomérulo, no se reabsorben o lo hacen muy escasamente por los túbulos ejerciendo allí

una presión osmótica, reteniendo agua. Además interceptan con la reabsorción de sodio y cloruro. Produciendo, una intensa diuresis osmótica.

**Farmacocinética:** Los diuréticos osmóticos así como no se reabsorben en los túbulos renales, tampoco se absorben o lo hacen con dificultad por el epitelio intestinal, por lo que se deben dar por vía intravenosa, en infusiones continuas. Son agentes inocuos o inertes, y no se metabolizan. La elevación de la osmolaridad, produce un aumento o arrastre del pasaje de agua hacia la sangre con una tendencia a la expansión plasmática o hipervolemia. Los diuréticos osmóticos están contraindicados en los pacientes con anuria debido a enfermedad renal y en los que no han respondido a dosis de prueba de los fármacos.

#### **e) Diuréticos inhibidores de la anhidrasa carbónica**

La anhidrasa carbónica enzima que cataliza la reacción  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_3\text{H}_2$ . La enzima se encuentra distribuida considerablemente en todos los tejidos, y deben inhibir el 99% de la actividad enzimática para que los inhibidores de la anhidrasa carbónica, sean efectivos.

**Mecanismo de acción:** La anhidrasa carbónica renal se encuentra en la membrana luminal de las células epiteliales tubulares y en el citoplasma de las mismas. El 90% del bicarbonato filtrado, es reabsorbido en el túbulo proximal. Un intercambio de  $\text{H}^+$  (que se excretan por secreción activa al fluido tubular) por iones de sodio da como resultado que el  $\text{CO}_3\text{HNa}$  es reabsorbido del túbulo hacia el líquido intersticial y al plasma, acompañan de una reabsorción pasiva de un volumen osmóticamente equivalente al agua.

**Farmacocinética:** La Acetazolamida, y los inhibidores de la anhidrasa carbónica, se reabsorben por vía oral. Su máxima concentración plasmática, se alcanza a las dos horas, se excreta por riñón, no se metaboliza, y se liga estrechamente a la enzima anhidrasa carbónica. Los inhibidores de la anhidrasa carbónica logran provocar acidosis metabólica hiperclorémica, fosfaturia e hipercalcemia con producción de cálculos renales, hipopotasemia intensa y reacciones de hipersensibilidad. (APESTEGUÍA, I. 2009. p 14)

La clasificación que combina, en lo posible, la eficacia diurética, con el sitio de acción y con la estructura química.

#### **a) Diuréticos de máxima eficacia.**

Actúan en los segmentos diluyentes; la fracción de eliminación de  $\text{Na}^+$  es superior al 15 %. Entre los más importantes están los sulfamiloil benzoatos furosemida, bumetanida y piretanida, el derivado de la sulfonilurea torasemida (torsemida), el derivado del ácido fenoxiacético ácido etacrínico y la tiazolidona etozolina.

#### **b) Diuréticos de eficacia mediana.**

Actúan en la porción final del segmento diluyente cortical y en el primer segmento del túbulo distal; la fracción de eliminación de  $\text{Na}^+$  es del 5-10 %. Entre estos tenemos las benzotiazidas (tiazidas e hidrotiazidas): hidroclorotiazida, al-tizida, bendroflumetiazida y mebutizida; sus derivados son clopamida, clortalidona, indapamida, xipamida y qui-netazona.

#### **c) Diuréticos de eficacia ligera.**

La porción de eliminación de  $\text{Na}^+$  es inferior al 5 %. Entre los sitios de acción se localizan: a) Ahorradores de  $\text{K}^+$ : actúan en el último segmento del túbulo distal por inhibición de la aldosterona: espironolactona y canrenoato de potasio, o con independencia de la aldosterona: amilorida y triamtereno. b) Inhibidores de la anhidrasa carbónica: acetazolamida y diclorfenamida. c) Agentes osmóticos: actúan en el túbulo proximal: manitol e isosorbida. (FLÓREZ, J; ARMIJO, A. p 819)

### **1.4. La hipertensión arterial (HTA)**

Es un síndrome distinguido por elevación de la presión arterial (PA) y sus consecuencias. Entre los factores se entiende, cada día más, que son varios procesos aún no identificados, y con base genética. La HTA es un elemento de riesgo muy importante para el desarrollo futuro de enfermedad vascular (enfermedad cerebrovascular, cardiopatía coronaria, insuficiencia cardíaca o renal).

Se siguen las recomendaciones de la OMS-SIH. Así pues, la hipertensión se define como una presión arterial sistólica de 140 mmHg o superior y/o una presión arterial diastólica de 90 mmHg o superior. (CASTELLS, E.2009. p 7)

## **1.5. Edema**

Resulta del griego OÍDEMA: hinchazón, se puede apreciar porque al apretar fuerte con el dedo y soltar el hundimiento permanece un tiempo, puede ser muy pocos segundos o varios minutos. Es la acumulación de cantidades anormales de líquido en los espacios intercelulares de los tejidos o en las cavidades corporales.

### **1.5.1. Tipos de edema según su origen:**

1. Edema Inflamatorio: que corresponde a un aumento de la permeabilidad vascular con aumento de la presión hidrostática intravascular y disminución de la presión coloidosmótica del plasma.
2. Edema No Inflamatorio: se debe a modificaciones de las fuerzas hemodinámicas a través de la pared capilar (edema hemodinámico).

### **1.5.2. Tipos de edema según su extensión:**

- Localizado: que se origina en una parte del cuerpo, por ejemplo ante una inflamación o hinchazón de una pierna en caso de trombosis venosa
- Generalizado o sistémico: que cuando es agudo provoca una hinchazón difusa de todos los tejidos y órganos del cuerpo, especialmente el tejido celular subcutáneo.

### **1.5.3. Tipos de edema según su localización.**

La presencia de edema en las diversas cavidades serosas del cuerpo adopta las siguientes designaciones: hidrotórax o derrame pleural (acúmulo de líquido en la cavidad pleural o torácica), hidropericardio o derrame pericárdico (acumulación de líquido en la cavidad pericárdica), e hidroperitoneo o ascitis (acúmulo de líquido en la cavidad peritoneal o abdominal). (BUYO, M. ARRIBAS, I. 2006. p 18)

## **1.6. Desequilibrio electrolítico**

El desequilibrio hidroelectrolítico es un efecto secundario provocado por los fármacos. El equilibrio de los electrolitos, ayuda al cuerpo a mantener los líquidos a las concentraciones adecuadas. La hiponatremia es un efecto adverso de todos los diuréticos. El riesgo de

hipopotasemia, que puede aparecer con los diuréticos tiacídicos y los de asa, depende de la duración de la acción, y es mayor con los tiacídicos que con los diuréticos. El riesgo de hipopotasemia, que puede aparecer con los diuréticos tiacídicos y los de asa (administrados a dosis equipolentes). Los diuréticos ahorradores de potasio pueden producir hiperpotasemia. Además pueden producir otros trastornos electrolíticos, como hipercalcemia ( tiacidas ), hipocalcemia ( diuréticos de asa ) e hipomagnesemia ( tiacidas y diuréticos de asa ). Los síntomas de desequilibrio hidroelectrolítico son sequedad de boca, sed alteraciones gastrointestinales (OMS 2004. p 19).

### **1.7. Estudio fitoquímico**

El estudio fitoquímico tiene como propósito aislar e identificar los diferentes tipo de compuestos los que podrán tener actividad o toxicidad en la planta. Utiliza un esquema general que emplea la extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente. Sometiendo a una extracción sucesiva a la planta fresca o seca, al extracto se mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, en gramos de sustancias extraídas por ml de extracto. (MIRANDA, M.2006. p 50)

Los metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones con medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Adoptan también la denominación de productos naturales. Se sintetizan en pequeñas cantidades, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.

Se agrupan en cuatro clases principales.

Terpenos. Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.

Compuestos fenólicos. Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.

Glicósidos. Saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianógenos y glucosinolatos.

Alcaloides.

#### **1.7.1. Tamizaje farmacológico y toxicológico**

Establece una de las etapas iniciales en la investigación sobre plantas medicinales. Entendiéndose por tamizaje un conjunto de técnicas relativamente simples que permite al investigador evaluar la posible acción farmacológica y la toxicidad de una planta. El tamizaje

farmacológico de extractos de plantas busca descubrir aquellas que presentan actividad farmacológica. El tamizaje farmacológico debe ser solícitamente realizado, para que sea seguro y reproducible; sin embargo, las técnicas y los procedimientos no deben de ser exageradamente elaborados y caros. La cantidad del material preciso para el tamizaje debe ser pequeño y los procedimientos deben programarse de tal manera que se pueda utilizar el material bruto, como extractos de plantas o fracciones de extractos. El tamizaje sea general o específico, produce solo probabilidades sobre la actividad que la muestra tendría en un ser humano enfermo.

El estudio farmacológico de las drogas tiene como finalidad:

1. Establecer las acciones farmacológicas, es decir, determinar la actividad de dichas drogas sobre organismos vivos. Procurando determinar tanto el efecto o efectos principales como los efectos secundarios.
2. Efectuar estudios de toxicidad para valorar los posibles efectos tóxicos de las drogas que se están estudiando.
3. Establecer el margen terapéutico es decir establecer la diferencia entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica. Habitualmente de la dosis depende la manifestación de efectos terapéuticos o tóxicos. En ocasiones, la diferencia entre dosis terapéutica (dosis a la que se desarrolla una acción eficaz) y dosis tóxica (dosis a la que aparecen manifestaciones nocivas) es muy pequeña y se indica entonces que el margen terapéutico es muy estrecho.

El tamizaje general es conocido también como “screening hipocrático, este nombre se deriva del método clásico de observación y deducción, preconizado por Hipócrates. El screening hipocrático es una técnica observacional, cualitativa y semi- cuantitativa, en la cual se utiliza los resultados verificados como patrón de actividad. Se lleva a cabo utilizando ratones o ratas, se observa en los animales que reciben la droga y los animales que sirven como control. Las vías de administración más comunes son la oral y la intraperitoneal. Las drogas deben de disolverse previamente o deben de estar en una suspensión en un vehículo acuoso. El uso de ácidos, de bases y de solventes orgánicos puede enmarcar la verdadera actividad biológica.

### ***1.7.2. El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico***

Una de las etapas iniciales del tamizaje farmacológico, que permite determina cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y conllevando a orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los de mayor interés. El tamizaje

fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de color y precipitación, con la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo coste. (OSORIO, J. 2009. p 18)

## 1.8. Compuestos polifenólicos

Incluye varios millares de estructuras muy variadas desde ácidos fenólicos, flavonoides y estilbenos de bajo peso molecular, hasta estructuras altamente polimerizadas y/o enlazadas a paredes celulares, como los taninos. (CSIC.2009. p 12)

### 1.8.1 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos, distribuidos en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy numerosas familias. En su estructura química contienen un número de grupos hidro-fenólicos, son quelatantes del hierro y otros metales de transición y presentan una gran capacidad antioxidante que depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la acción inhibitoria de radicales hidroxilo y superóxido, altamente reactivos en la cadena de peroxidación lipídica. Previenen la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos) y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (prevención de la placa de ateroma). Poseen efectos terapéuticos en un elevado número de condiciones patológicas, incluyendo la aterosclerosis y la cardiopatía isquémica. (RUSSO, R y otros. 2006. p 7)

### 1.8.2 Aspectos químicos

Son moléculas que tienen dos anillos bencénicos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, también llamados por los autores como compuestos C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>. (MARTÍNEZ, A.2005. p 25)

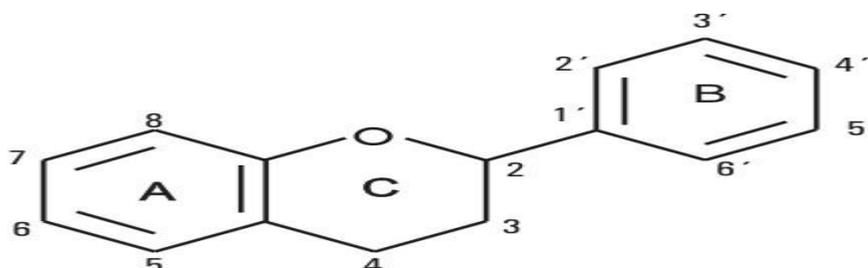


Figura1-1: Estructura básica de los flavonoides

Fuente: [http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol22\\_1\\_03/ibi07103.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol22_1_03/ibi07103.htm)

De acuerdo con las variantes estructurales que presenta la cadena central C3 se han clasificado en varios grupos: Chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides. Sin embargo dentro de las plantas los estudios han mostrado que estas sustancias se encuentran en su mayoría, ligados a moléculas de carbohidratos. A este tipo de combinación núcleo flavonoide básico + una o varias unidades de carbohidratos, se les denomina GLICOSIDOS, y cuando no tienen ligadas moléculas de carbohidratos se las denomina AGLICONAS FLAVONOIDES. (MARTÍNEZ, A.2005. p 24).

### ***1.8.3. Fuentes naturales***

Los flavonoides se encuentran dentro de la dieta humana en productos tales como frutas, verduras y semillas, así como en bebidas como té verde, té negro, cerveza y vino así como en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales.

Se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que se pueden destacar:

1. Citoflavonoides: quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. La quercitina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoli, cerezas, uvas o repollo rojo. La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naranjina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.
2. Isoflavonoides: están presentes en los alimentos con soya tales como frijoles, leche, harina y proteína vegetal texturizada. Los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeína.
3. Proantocianidinas se localizan en las semillas de uva y vino tinto
4. Antocianidinas: son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas.
5. Ácido elálgico: se encuentra en frutas como la uva y en verduras.
6. Catequina: en té verde y negro.
7. Kaemferol: aparece en puerros, brócoli, rábano y remolacha. (RUSSO, R y otros. 2006. p 7)

### ***1.8.4. Propiedades***

Antialérgicas, antiinflamatorias, antihipertensivas, diuréticas y papel en el cáncer y en las hiperlipidemias. (CSIC.2009. p 8)

### **1.9. Cromatografía en capa fina (CCF)**

La cromatografía en capa fina técnica que consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. En esta técnica, una solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un tubo capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (silica, alúmina) distribuido uniformemente. (SHARAPIN, N.2000. p 152)

La constante RF mide la retención de un componente. El máximo valor de RF que se puede alcanzar es de 1. Lo magnífico es un RF entre 0.65 y 0.7.

Las ventajas del uso de la cromatografía en capa fina:

- Equipo simple y de bajo costo
- Es fácil su comprensión y ejecución
- Rapidez, reproducibilidad y versatilidad en el análisis
- Utilización de una pequeña cantidad de solvente y de la muestra a ser analizada
- Posibilidad de analizar varias muestras en una sola placa cromatográfica
- Posibilidad de revelar las placas con reactivos cromogénicos, lo cual hace posible detectar sustancias que no absorben en la región UV/ visible.
- Posibilidad de efectuar separaciones en escala semi-preparativa. (SHARAPIN, N.2000. p 161)

### **1.10. Espectrometría uv-vis**

Se usan frecuentemente para confirmar la identidad de una sustancia mediante la comparación del espectro medido con uno de referencia, La espectroscopia UV-visible puede utilizarse para determinar muchas características físico-químicas de los compuestos. (OWEN, T.2000. p 66)

#### **1.10.1. Espectro ultravioleta-visible**

Cuando la radiación interacciona con la materia, pueden ocurrir varios procesos como reflexión, dispersión, absorción, fluorescencia/fosforescencia (absorción y reemisión) y una reacción fotoquímica (absorción y rotura de enlaces). En general, cuando se miden espectros UV-visible, sólo es deseable que ocurra absorción. Como la luz es una forma de energía, la absorción de la luz por la materia causa que aumente el contenido de energía de las moléculas (o átomos). (OWEN, T.2000. p 67).

Los Flavonoides pueden detectarse en una CCD por el color que desarrollan en el Vis o en el UV; los espectros de los flavonoides son determinados comúnmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos 240-285 nm y 300 - 550 nm. (LOCK, O.1997. p 85)

**Tabla 4-1:** Valores de absorción de los diferentes tipos de flavonoides.

250-280	310-350	Flavonas
250-280	330-360	Flavonoles(3-OH sustituido)
250-280	350-385	Flavonoles (3-OH libre)
245-275	310-330h	Isoflavonas(5-dioxi-6,7-dioxi)
275-295	300-330h	Isoflavonas,dihidroflavonoles
230-270(baja intensidad)	340-390	Chalconas
230-270(baja intensidad)	380-430	Auronas
270-280	465-560	Antocianidinas,antocianinas

Fuente: LOCK, O.1997

### 1.11. Animales de experimentación

La importancia del uso de animales en el laboratorio, la ciencia se ha desarrollado de una forma significativa gracias a los diferentes modelos animales, aportando al conocimiento de la biología y fisiología y estableciendo diagnósticos y tratamientos que mejoran la calidad de vida del hombre.

Así mismo la importancia de trabajar con ética y sin hacer daño innecesario a los modelos animales, evitándoles sufrimiento y dolor. (MUÑOZ, J.Y OTROS.2007. p 15).

Las plantas constituyen un arsenal de sustancias biológicamente activas, para identificar una acción farmacológica supuesta en la planta, en el estudio farmacológico se deben emplear modelos experimentales que sean imprescindibles y adecuadamente validados, trabajar con animales sanos, originarios de Bioterios y adecuadamente estandarizados, emplear controles positivos y aplicar las buenas prácticas de laboratorio, así como los principios éticos para la investigación en animales, en el estudio de plantas medicinales para luego incorporarlos en formas farmacéuticas (fitofármacos). (DEHESA, M. p 25)

Convirtiéndose los fitofármacos en una terapia alternativa necesaria. La aplicación debe efectuarse sobre una base científica, resultados de las investigaciones que corroboran su eficacia y seguridad. En las investigaciones farmacológicas los ensayos con animales de experimentación resultan imprescindibles para la búsqueda y aplicación de posibles medidas terapéuticas.

Los experimentos con animales tienen su fundamento en el hecho de considerar a otras especies animales como modelos en miniatura de los problemas humanos brindando información exclusiva. (RODRÍGUEZ, E. 2007. p 15)

### 1.11.1 *Ratas de laboratorio*



**Imagen 1- 1:** Ratas (*Rattus norvegicus*)  
Fuente: POCH.P. 2012

Corresponden a la especie *Rattus norvegicus*, es una cepa de ratas albinas. Con finalidad de utilizarlas en la investigación médica y biológica, en la constituyéndose una de las cepas de ratas más utilizadas en la experimentación científica. Esta especie se caracteriza por ser de fácil manejo, pelo corto y orejas pequeñas, de 250 –300 g, olfato y oído desarrollado. Anatomía y Fisiología de la rata: Hígado Pentalobulado, la Vesícula Biliar está ausente en la rata, No regurgitan ni Vomitan.

La rata, después del ratón, es el animal de experimentación más utilizado en investigaciones biomédicas, especialmente en fisiología, toxicología, farmacología, comportamiento, inmunología y oncología. Además por el hecho de que algunas líneas de rata de laboratorio presentan una susceptibilidad específica para ciertas enfermedades complejas como la obesidad o el cáncer. Su mayor tamaño permite efectuar ciertos protocolos que son muy dificultosos de llevar a cabo en el ratón. Por ejemplo, con el desarrollo de las técnicas de microcirugía, y desde la existencia de líneas definidas (con un detallado conocimiento de sus parámetros inmunológicos), la rata de laboratorio se ha convertido, en la especie más importante como estándar en trasplantes de órganos. (BAKER, J. y otros.1980. p 6)

### 1.11.2. *Manipulación de las ratas*

La farmacología experimental se sirve de animales como reactivo biológico, para ensayos de fármacos, muchas veces, lo que se trata es administrar un producto por varias vías, para ello se

necesita que el animal no presente resistencia para la administración aquí la importancia de saber manipular desde el primer momento a los animales.

La rata es un animal dócil y menos nervioso el macho que la hembra, para extraerlo de la jaula, se debe abrir previamente la rejilla, dejar que los animales tomen confianza y posteriormente se realiza una sujeción de todo el cuerpo, con los 5 dedos, en forma gentil.

Una de las técnicas más recomendadas para su sujeción consiste en apoyar la nuca del animal en el borde interno del dedo índice, si se sujeta con la mano derecha, el dedo pulgar pondrá el miembro anterior izquierdo del animal frente a su hocico, el miembro anterior izquierdo quedará sujeto entre el dedo índice y medial, de manera que la cabeza quede inmóvil. (MUÑOZ, J.Y otros. 2010. p 2)

### ***1.11.3. Vías de administración.***

- a) **Vía oral (p.o.):** Por esta vía se administran soluciones y suspensiones por medio de una sonda de pequeño calibre, que permite la introducción del fármaco a la cámara gástrica por el hocico del animal; si el producto no es soluble por sonda orogástrica directamente hasta el nivel gástrico, se puede mezclar la sustancia con sirope obteniendo un alimento, mejor si se tiene hydroxipropil metil celulosa a 0.5 %.
- b) **Vía intravenosa (i.v.):** Administración de sustancias a dosis exactas, así como para extraer muestras de sangre. En ratas y ratones se puede utilizar la vena marginal de la cola.
- c) **vía intraperitoneal (i.p.):** Tomando en cuenta la rápida absorción por esta vía y el fácil acceso a la misma, es una de las vías más utilizadas en el laboratorio. En el ratón y la rata, se expone la región abdominal y se inyecta en el cuadrante inferior izquierdo; la aguja, de 27 X 6 mm, debe formar un ángulo de 10 grados con el plano corporal.
- d) **vía intramuscular (i.m.):** En el caso de esta vía, se presenta el dorso del animal y el fármaco se deposita con una aguja de 27 X 13 mm en la parte posterior de los cuartos traseros.
- e) **vía subcutánea (s.c.):** El fármaco es depositado por debajo de la piel del dorso con una aguja de 27 x 6 mm, levantando la piel con una mano introduciendo la aguja con la otra mano.

**Tabla 5-1:** Volumen máximo permitido en administración por cada vía

ANIMAL	i.v.	i.m.	i.p	p.o
RATÓN (20-30g)	0.5	0.05	1.0	1.0
RATA(100g)	1.0	0.1	2.0-3.0	5.0
COBAYO(250g)	1.0	0.25	2.0-5.0	10.0
CONEJO(2.5kg)	5.0-10.0	0.5	0.5	20.0

Fuente: MANEJO DE ANIMALES. file:///C:/Users/CELESTE/Downloads/56T00314.p

### 1.12. Caña agria (*Costus spicatus*)



**Imagen 2- 1:** Planta de Caña Agria (*Costus spicatus*)

Fuente: BRUNO.2010

### Caña de jabalí

**Tabla 6-1:** Clasificación científica de Caña Agria (*Costus spicatus*)

Reino	Plantae
Familia	<i>Zingiberaceae</i>
División	Plantae
Genero	Costus
Especie	<i>C. spicatus</i>
Nombre común	cañita de monte
Orden	<i>Zingiberales</i>

Fuente: Sosa, R.2015

### 1.13. 1. Botánica y ecología.

Hierba de 1 a 2 m de altura, con tallos sin ramificar, articulados y cilíndrico. Las hojas son alargadas y envuelven al tallo. Las flores se prestan en grandes espigas y tienen una estructura parecida a una hoja de color rojizo. Originaría de México. Presente en climas cálido, semicálido y templado entre los 800 y los 2600 m snm. Asociada a bosques tropicales su perennifolio y perennifolio y bosques mesó filo de montaña.

### **1.12.2. *Etnobotánica y antropología.***

La caña agria se emplea, para el tratamiento del “mal de orina; el enfermo presenta dificultad y dolor al orinar, dolor fuerte en el vientre. El tratamiento consiste en beber en ayunas el agua en donde se han remojado trozos de la capa delgada que se desprende del tallo de la caña agria, o bien, se hierva el tallo sin hojas para que el enfermo beba una taza por la mañana y otra por la tarde; igualmente se aconseja en ocasiones masticar el tallo. En algunas preparaciones se sugiere acompañar los preparados con cabellos de maíz o con chote y ojite.

Se le menciona útil para tratar afecciones de los riñones (inflamación), las paperas, “boca pelada” y en infecciones de la vista. En este último caso, se aplican unas gotas obtenidas al exprimir el tallo tierno.

### **1.12. 3. *Fitoquímica y farmacología***

Se sabe muy poco acerca de fotoquímica de esta planta, los estudios que se han realizado sobre la química de *Costus spicatus* han reportado presencia de cianidin, camferol, delfinidin, flavonoides y quercetina en las hojas. También se ha probado que protege a los riñones de la toxicidad de los medicamentos. Por su amplio espectro se recomienda para todas las afecciones inflamatorias. Otro componente como el kamferol actúa como: antioxidante, antiinflamatorio, antiepiléptico, anti cancerígeno, antiespasmódico, diurético

### **1.12. 4. *Forma de empleo***

Se usan los tallos y hojas, en infusión, té, colirio, y en agua fresca para tomar.

### **1.12. 5. *Usos medicinales***

Diurética, además de aumentar la producción de orina y la eliminación de sustancias de desecho, desarrolla una interesante acción antiinflamatoria sobre los órganos urinarios. La caña de jabalí es una de las hierbas más completas para aliviar afecciones de los riñones.

Se recomienda su uso en caso de nefritis, cálculos urinarios e inflamación de la vejiga (cistitis).

Emenagoga: aumenta la menstruación cuando es escasa.

Es calmante de los dolores menstruales (dismenorrea)

### **1.12. 6. Posología y recetas**

**Agua fresca:** para inflamación de los riñones y vías urinarias. Las hojas se licuan con un poco de agua, se cuela el licuado y se prepara en una jarra con agua limpia como agua fresca. Se puede endulzar con un poco de miel o azúcar morena. Esta preparación se puede tomar a diario.

**Té:** las hojas secas se lavan y se ponen a hervir con un poco de agua, la cocción se puede endulzar con un poco de miel o azúcar azúcar morena, tomándose así por las noches.

**Infusión:** Para el mal de orina. Tres trozos de tallo, mezclados con un pedazo de sábila, en un litro de agua; tomando como agua de tiempo.

Dos pedazos de cañita en medio litro de agua o puede comerse el fruto crudo; ambos se toman en ayunas. Se hierva junto con los cabellos de maíz y se toma contra el mal de orina, o también se usa junto con el chote y ojite, se cuela y se deja reposar, tomándose al día siguiente.

**Colirio:** para infecciones en los ojos. Se corta una parte del tallo tierno, se exprime para Extraer unas gotas de este, que se colocaran en los ojos.

**Otros:** afecciones en la boca. Se mastica un pedazo del tallo. Para bajar la fiebre.

### **1.12.7. Cuidados y contraindicaciones**

No se conocen contraindicaciones. (OCAMPO, Z., CRUZ, A.2010. p 2)

## CÁPITULO II

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 Lugar de investigación

Confirmación e identificación taxonómica: Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

Control de calidad de la droga (*Costus spicatus*) y preparación de extractos: Laboratorio de fitoquímica, análisis instrumental, de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, ESPOCH.

Evaluación de la actividad diurética: Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.

Análisis de electrolitos: Laboratorio clínicos automatizados LACFE.

#### 2.2 Materiales, equipos y reactivos.

##### 2.2.1 *Materia prima*

El material vegetal de caña agria (*Costus spicatus*) la parte utilizada son los tallos.

##### 2.2.2 *Material biológico*

Para el estudio in vivo de la actividad diurética se utilizaron ratas (*Rattus norvegicus*), provenientes del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Las ratas se dividieron en 5 grupos: grupo B (blanco), grupo C+ (control positivo), Grupo T1 (tratamiento al 20%), grupo T2 (tratamiento al 60%) y grupo T3 (tratamiento al 100 %).

#### a. Características

**Peso promedio:** 270g

**Edad:** 4-5 meses

**Sexo:** Machos/ hembras

Lugar de nacimiento: Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**b. Condiciones ambientales:**

**Temperatura:** 22 ° C +/- 2

**Humedad relativa:** 50 % +/-10

**Periodo de fotoluminiscencia:** 12 Horas de luz y 12 Horas de oscuridad

**Cama con viruta:** cambio cada 48 horas

**Alimentación:** pellets de balanceado para roedor 15g/100g peso al día y Agua ad libitum

**Periodo de tiempo (ambientación):**7 días

**2.2.3 Equipos**

- Mufla (Optic Ivymen System )
- Estufa ( Memmert)
- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-V)
- Balanza de animales de sensibilidad 0,1 g analítica
- Refractómetro
- pH-metro
- Espectrofotómetro
- AVL 9380

**2.2.4 Materiales de laboratorio**

- Frasco ámbar estériles de vidrio
- Tubos de ensayo
- Capsulas de porcelana
- Crisol
- Gradilla
- Balones aforados de 10, 25, 50 y 100 mL
- Vasos de precipitación 50, 250 y 500 mL
- Pipetas volumétricas 1, 5, y 10mL
- Probetas 25 y 50 mL
- Trípode

- Varilla de agitación
- Reverbero
- Mortero con pistilo
- Matraces
- Embudo simple
- Mangueras
- Termómetro
- Pera de succión
- Placas de vidrio
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Cánula
- Jeringuilla de 1 y 3 mL (NYPRO)
- Algodón
- Guantes, mascarilla, cubre zapatos
- Jaulas para ratas
- Bebederos para ratas

### **2.2.5 Reactivos**

- Furosemida 20 mg / kg
- Éter dietílico
- Alcohol al 96°
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Ácido fórmico
- Acetona
- Agua Destilada
- Reactivos de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Fehling
- Hidróxido de sodio 1 M

- Amonio 5%
- Magnesio metálico
- Metanol
- Solución de carbonato de calcio
- Suero fisiológico (NaCl 0.9 %)
- Cloruro férrico
- Alcohol amílico
- Jugo de caña
- Silica gel 60 F254 (Merck)
- NaNO<sub>2</sub>
- AlCl<sub>3</sub> 10 %
- Cloroformo

## **2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS**

### ***2.3.1 Comprobación e identificación taxonómica***

La comprobación e identificación taxonómica del vegetal Caña Agria (*Costus spicatus*) fueron realizadas en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

### ***2.3.2 Recolección del material vegetal: muestreo***

La materia prima tallo de Caña Agria (*Costus spicatus*) fue recolectada a una altitud 924 metros sobre el nivel del mar, temperatura promedio de 27°C, Humedad relativa 80%, en época de verano, en la ciudad del Puyo, Provincia de Pastaza. Se descartó todas las partes aéreas, se lavó con abundante agua y luego se desinfectó con Kilol DF 100, seguido del secado con corriente de aire a una temperatura no mayor de  $30 \pm 5$  °C, para impedir deteriorar algún componente químico presente en la planta.

### ***2.3.4 Preparación de extracto***

En la preparación del extracto por prensado de tallos de caña agria (*Costus spicatus*), Se obtiene la planta de caña agria fresca, separar las partes aéreas de los tallos, desechar los tallos que presenten contaminación ya sea por insectos o microorganismos, y aquellos cañotes que se encuentren manchados y deteriorados, eliminar las impurezas de los cañotes lavando con abundante agua purificada, se retiró el bagazo de los cañotes de caña agria, se procedió a

fragmentar la caña en cortes pequeños para facilitar el prensado así obteniendo el líquido, luego se procedió a filtrar, y posteriormente colocar en un envase de vidrio obscuro y guardar en un lugar fresco para su posterior uso.

### **2.3.5 Parámetros de control de calidad**

El análisis de control de calidad del vegetal se lo realizó en base a la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001) y Norma Internacional.

#### **Determinación de Humedad**

A una capsula de porcelana previamente tarada se agrega 2g de vegetal pulverizado y molido colocar en la estufa a T de 105°C, por tres horas. Colocar en un desecador hasta su enfriamiento se pesa hasta peso constante, la medición se realiza cada 30 minutos. (MIRANDA, M.2000 p 33)

$$H = \frac{M2 - M}{M2 - M} X 100$$

H = Pérdida de peso por desecación (%)

m = Peso de la cápsula más la muestra (g)

m1= Peso de la cápsula más la muestra (g)

m2= Peso de la cápsula más la muestra (g)

100 = Factor matemático para los cálculos

#### **Determinación de cenizas totales**

Colocar en un crisol previamente tarado 2g de vegetal pulverizado y molido, se calienta la muestra hasta carbonizarla y posteriormente se la coloca en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 h.

Se coloca en un desecador hasta que se enfríe y se pesa tres veces hasta que tenga un peso constante, la medición se realiza cada 30 minutos.

Si la muestra posee residuos de carbón se adiciona peróxido de hidrogeno concentrado y calentar hasta que se evapore obteniéndose así un residuo de color blanco. (MIRANDA, M. 2000 p 36)

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} X 100$$

C = Porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M = Masa del crisol vacío (g)

M1 = Masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M2 = Masa del crisol con la ceniza (g)

100 = Factor matemático para los cálculos.

### **Determinación de cenizas solubles en agua**

A las cenizas anteriormente obtenidas, añadir 15ml de agua. Se tapa y se coloca el crisol en un reverbero hasta que hierva durante 5 minutos y luego se filtra.

El residuo se coloca en un crisol, se carboniza y se coloca en la mufla a 700 o 750°C, durante 2 horas. Se coloca en el desecador hasta que se enfríe y se pesa cada 30 minutos hasta obtener una temperatura constante.

$$Ca = \frac{m2 - ma}{m1 - m}$$

Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M2= masa del crisol con las cenizas totales (g)

Ma =masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M = masa del crisol vacío

100 = factor matemático

### **Determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico**

A las cenizas se añaden 2 ml de ácido clorhídrico al 10% en un crisol en donde se les cubre con un vidrio reloj y se calienta en un baño de agua durante 10 minutos, se lava el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente y se coloca en el crisol. (MIRANDA, M. 2000 p 39)

Se filtra la solución y se enjuaga con agua caliente, al cual se adiciona una gota de nitrato de plata 0.1mol/L, para que no haya la presencia de cloruros, en donde se coloca nuevamente en el crisol y se deseca a una temperatura de 105°C, luego se le coloca en la mufla a una temperatura de 700 a 750°C durante 2 horas. Se coloca en el desecador hasta que se enfríe y se pesa cada 30 minutos hasta obtener una temperatura constante. (MIRANDA, M. 2000 p 35)

$$A = \frac{M2 - M}{M1 - M} X 100$$

A= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M2 = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático.

### *2.3.5.1 Parámetros de calidad del extracto de caña agria*

El análisis de control de calidad reconoce determinar la calidad de los extractos obtenidos o mantener la estabilidad de la misma (MINSAP. 1992 p 68)

#### **Requisitos organolépticos**

##### **Apariencia**

Análisis visual del aspecto colocando en un tubo de ensayo la muestra del extracto de jugo de caña.

##### **Olor**

Se toma un tira de papel secante aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto.

##### **Color**

Se toma un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y si existe la separación de capas.

##### **Sabor**

Se toma una pequeña cantidad del extracto en la palma de la mano o en el dedo índice y se hace contacto con la punta de la lengua y se identifica el sabor.

##### **Determinación del pH**

Se ajustó el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra. El método potenciométrico determina la concentración del ion hidrógeno.

## **Densidad Relativa**

Primero se pesó el picnómetro previamente lavado y secado, se llena con la porción de ensayo, se mantiene a temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 15 min, se ajusta el líquido al nivel empleado, si es preciso, se usa una tira de papel para extraer el exceso y secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa con mucho cuidado el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con agua destilada a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , después de limpiar el picnómetro.

## **Índice de refracción**

Este parámetro es una constante característica de cada sustancia. Se mide colocando sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, para encerrar. Se ajusta el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. Se seca el prisma y se coloca una gota del extracto y se realiza la lectura.

## **Sólidos totales**

Tarar una capsula de porcelana hasta peso constante colocar una muestra de 5ml, colocar la capsula en baño maría hasta que el residuo este aparentemente seco, luego colocar en un estufa hasta peso constante (3h), retirar la capsula de la estufa y colocar en una desecadora.

$$st = \frac{M1 - M}{V} \times 100$$

M1= masa de la cápsula más el residuo (g)

M= masa de la cápsula vacía (g)

V= volumen de la porción de ensayo.

100=factor matemático para el cálculo.

### ***2.3.6 Estudio químico cualitativo tamizaje fitoquímico del extracto de caña agria***

Para determinar cualitativamente los metabolitos presentes se utilizaron los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración.

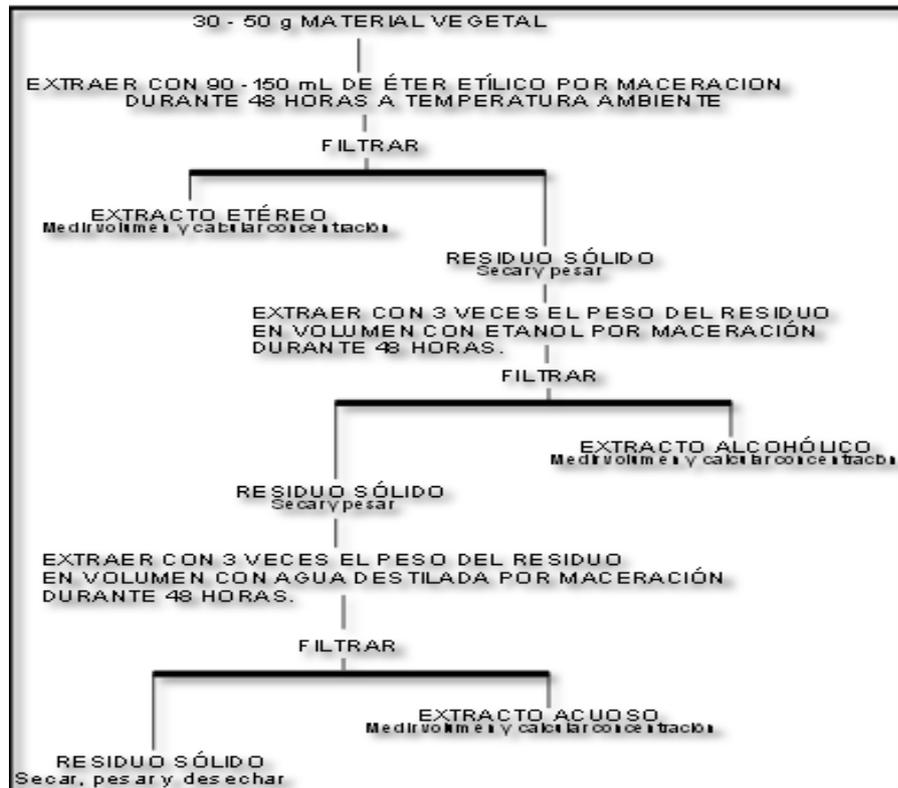


Figura 2-2: Procedimiento para obtención de extractos

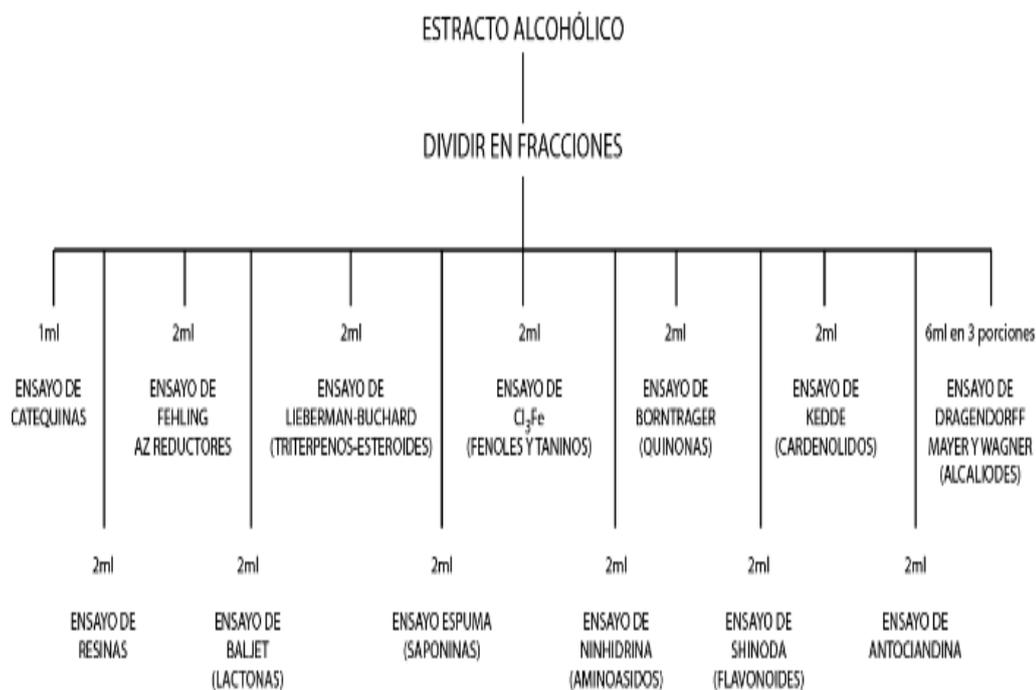
Fuente: (MIRANDA, M. 2000. p 43)

El tamizaje se realizó mediante el proceso que se observa a continuación:

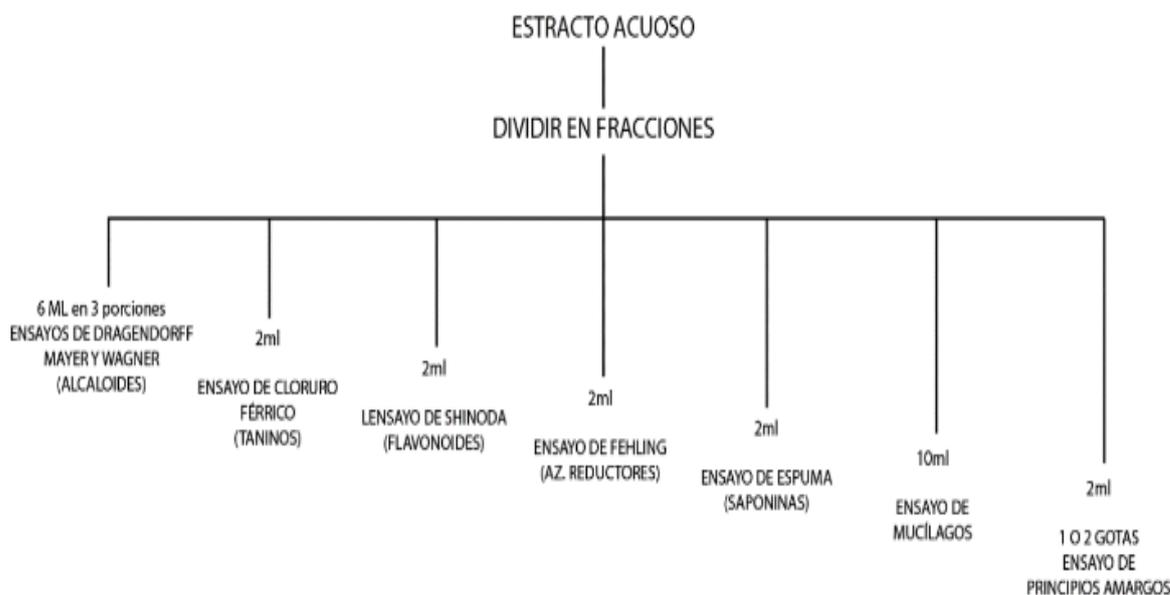


Figura3-2: Esquema de las reacciones, realizadas en el extracto de éter etílico

Fuente:(MIRANDA, M. 2000. p 44)



**Figura4-2: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico**  
Fuente:(MIRANDA, M. 2000. p 45)



**Figura5-2: Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso**  
Fuente:(MIRANDA, M. 2000. p 49)

### 2.3.6.1 Ensayo de Dragendorff

Detecta la presencia de alcaloides, si el extracto esta disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo, re disolver en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

Para el ensayo, a la solución acuosa acida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se observa:

Opalescencia: (+)

Turbidez definida: (++)

Precipitado: (+++)

#### *2.3.6.2 Ensayo de Wagner*

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se le adiciona 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

#### *2.3.6.3 Ensayo de Mayer*

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución se le adiciona 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

#### *2.3.6.4 Ensayo de Liberman –Buchard*

Reconoce en un extracto la presencia de triterpenos. Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re disolver en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

Rosado –azul muy rápido.

Verde intenso –visible aunque rápido.

Verde oscuro –negro –final de la reacción

Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues esta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

#### *2.3.6.5 Ensayo de Borntrager*

Indica presencia de quinonas.

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re disolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio

o amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su anterior separación.

El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) , o, rojo para lo cual se reporta (+++)

#### *2.3.6.6 Ensayo de Baljet*

Permite reconocer la presencia de Camarinas. Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y re disolverse en 1 ml de alcohol. Seguidamente, se añade 1 ml del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojizo ( ++ y +++ ) respectivamente.

#### *2.3.6.7 Ensayo de Sudan iii.*

Es útil para conocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello cuando un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución de Sudan III al 0.6 % en glicerina –agua (1:1)

La aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro, indica la presencia de Lípidos y/o aceites esenciales.

#### *2.3.6.8 Ensayo de Catequinas.*

Para ello, tomar de la solución alcohólica obtenida, una gota con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique una solución de Carbonato de Sodio.

La aparición de una mancha verde carmelita a la Luz UV, indica positiva la prueba

#### *2.3.6.9 Ensayo de Resinas*

Para detectar este tipo de compuestos, adicione a 2 ml de la solución alcohólica, 10 ml de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo

#### *2.3.6.10 Ensayo de Espuma*

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 –10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y es persistente por más de 2 minutos.

#### *2.3.6.11 Ensayo del Cloruro Férrico.*

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- ✓ Desarrollo de una coloración rojo –vino, compuestos fenólicos en general.
- ✓ Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecolicos.
- ✓ Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos

#### *2.3.6.12 Ensayo de Ninhidrina*

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general

A la fracción disuelta en 1 ml de Etanol se le adiciona 1 ml de solución de Ninhidrina al 5 %. Se calienta en baño de agua de 5 a 10 minutos.

Si aparece una coloración azul o violeta el ensayo es positivo

#### *2.3.6.13 Ensayo de Shinoda*

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezcla las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

#### *2.3.6.14 Ensayo de Antocianidinas*

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6 –C3 –C6 del grupo de los flavonoides.

Se calienta 2 ml del extracto etanólico por 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado.

Dejar enfriar y luego adicionar 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Agitar y dejar separadas las 2 fases.

La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo

#### *2.3.6.15 Ensayo de Fehling*

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo o re disolverse en 1 –2 ml de agua. Se adiciona 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua 5 –10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo

### ***2.3.7 Análisis cromatográfico del marcador químico flavonoides***

#### **Fundamento**

La cromatografía en capa fina es una técnica analítica rápida y sencilla que permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto.
- Comparar muestras.
- Realizar el seguimiento de una reacción.

Se basa en la distribución en dos fases, la estacionaria, compuesta por una capa de hidratación y la móvil, que se trata de un solvente orgánico y en un soporte de una capa de 0,1 a 1 mm de óxido de silícico o celulosa, apoyada en un subsoporte de cristal, de tal forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. (CASTAÑEDA, C. 2002. p 15)

#### **Procedimiento**

- Se utilizó el extracto metanólico concentrado para realizar la cromatografía.

- Con la ayuda de un capilar se coloca una muestra de (10 uL) del concentrado metanólico en una placa cromatografía de sílica gel 60 F254.
- Aplicar por triplicado en el mismo punto, dejando secar después de cada aplicación.
- Se prepara el solvente de corrido y se deja por unos minutos en la cuba cerrada para saturar el vapor.
- Se procede a colocar la placa en la cuba cromatográfica y se dejó correr el solvente hasta las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa.
- Se retiró la placa de la cuba y se dejó secar para observarla en la lámpara UV 365 nm.
- Se reveló la placa con vapores de sulfato de cerio y se dejó secar al calor del reverbero.
- Se observó la fluorescencia coloreada nuevamente a la luz UV (365nm), y se toma nota de los Rf.

**Cálculo:**

$$RF = \frac{\textit{Distancia recorrida por la muestra}}{\textit{Distancia recorrida por los solventes}}$$

**Condiciones de ensayo**

**Adsorbentes:** Sílica gel 60 F254

**Sistema de solventes:** cloroformo – acetona – ácido fórmico (75:16.5:8.5)

**Revelador:** vapores de sulfato de cerio

**2.3.8 Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales (método del  $AlCl_3$ ) expresados como rutina**

**Fundamento:**

El tricloruro de aluminio anhidro ( $AlCl_3$ ) forma quelatos con flavonoides orto-dihidroxisados, 3-hidroxisados y 5-hidroxisados en medio básico. Estos quelatos presentan una coloración rosada indicando la presencia de flavonoides. (PALOMINO, L. y otros. 2009. p 8)

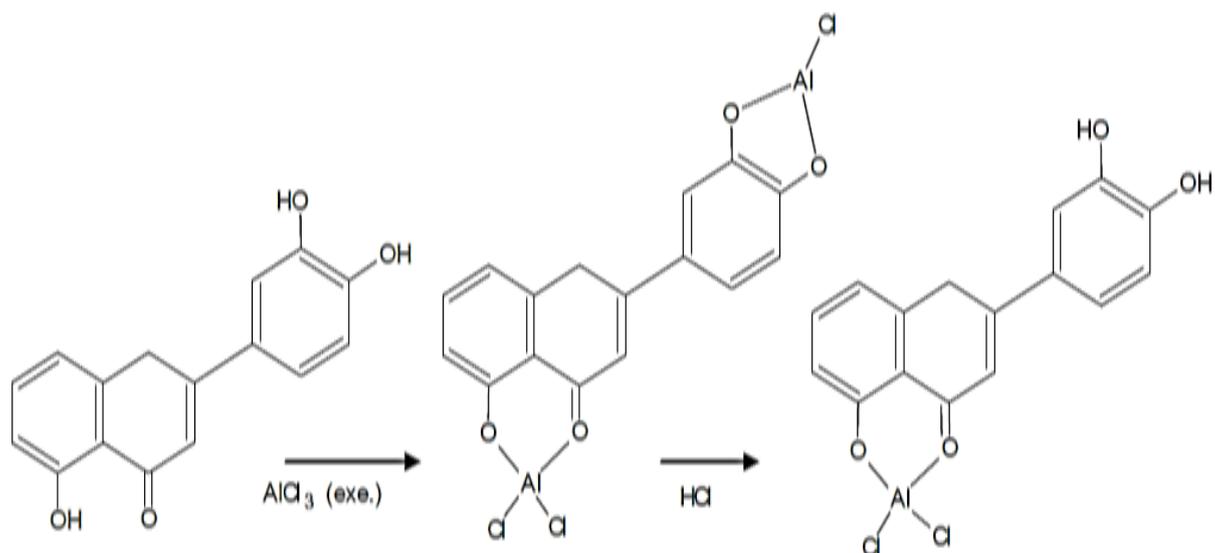


Figura6-2: **Reacción de quelación del ión  $Al^{3+}$  con los flavonoides**  
Fuente: MARKHAM, 1968

### Procedimiento

El análisis del contenido de flavonoides en extracto acuoso fue medido por espectrofotometría UV- visible.

- ✓ Tomar una alícuota de 500  $\mu$ L de extracto acuoso de *Costus spicatus* se coloca en un tubo de ensayo, se añade 400  $\mu$ L de agua bidestilada.
- ✓ Inmediatamente se añade 38  $\mu$ L de  $NaNO_2$  al 5% p/v, se homogeniza y se coloca a la mezcla a un reposo cerrado a temperatura ambiente por 5 minutos.
- ✓ Luego se añadió 38 $\mu$ L de  $AlCl_3$  al 10% p/v, se agitó, y se dejó en reposo, cerrado a temperatura ambiente durante 6min.
- ✓ Finalmente a la reacción se agregó 250  $\mu$ L de  $NaOH$  1M más 24  $\mu$ L de agua bidestilada, así completando un volumen final de 1250  $\mu$ L.
- ✓ La absorbancia fue medida inmediatamente transcurrido el tiempo de reacción a 510 nm en un espectrofotómetro UV – visible. Realizando el ensayo por triplicado.
- ✓ La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de rutina a diferentes diluciones.
- ✓ Los resultados se expresaron como ug de rutina por ml de extracto.
- ✓ El contenido de flavonoides totales se calculó en base a la ecuación de la recta del estándar utilizado (rutina).

**Fórmula:**  $Y = 0,01228 X + 0,0067$

**Dónde:**

**Y** = Absorbancia

**X** = Concentración de flavonoides

### 2.3.9 Evaluación de la actividad diurética del extracto del tallo de caña agria (*Costus spicatus*).

**Tabla 1-2:** Definición de los grupos por extractos

CÓDIGO	GRUPO	TRATAMIENTO	NÚMERO DE ANIMALES
A	Blanco	Suero fisiológico	3
B	Tratamiento 1	JCA al 20 %	3
C	Tratamiento 2	JCA al 60 %	3
D	Tratamiento 3	JCA al 80 %	3
E	Control +	Furosemida 20 mg/kg	3
TOTAL			15

Fuente: COLOMA, J; TOAPANTA, G. 2015

#### 2.3.9.1 Protocolo farmacológico

**Tabla 2-2:** Evaluación farmacológica

GRUPOS	ADMINISTRACIÓN	EVALUACIÓN								NÚMERO DE RATAS
		% de volumen de orina excretado en horas						Valoración de electrolitos mEq		
		1	2	3	4	5	6	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	
BLANCO	Suero fisiológico 5 ml/ kg de rata									
TRATAMIENTO 1	Extracto al 20 %									
TRATAMIENTO 2	Extracto al 60 %									
TRATAMIENTO 3	Extracto al 80 %									
CONTROL +	Furosemida 20 mg/kg									
TOTAL										15

Fuente: COLOMA, J; TOAPANTA, G. 2015

#### a. Periodo de ambientación

Periodo en el cual se ambientan a los animales de experimentación a las condiciones ambientales y de alimentación según el protocolo de investigación. Además se ambientan al investigador y a la técnica que se va a realizar mediante manipulación y adaptación.

**Temperatura:** 22 °C +/- 2

**Humedad:** 50 % +/-10

**Periodo de fotoluminiscencia:** 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

**Alimentación:** pellets de balanceado para roedor 15g/100g peso al día y Agua ad libitum.

Homologación de pesos: 290 ±5

**Periodo de tiempo:** 7 días.

### **b. Modelo experimental**

**Tabla 3-2:** Denominación de grupos para la investigación

GRUPOS	REPETICIONES		
G I	R1	R2	R3
G II	R1	R2	R3
GIII	R1	R2	R3
GIV	R1	R2	R3
GV	R1	R2	R3

### **DONDE:**

GI: BLANCO: suero fisiológico administración de 5ml vía oral.

G II: control positivo (G C +): furosemida en dosis de 20 mg/kg de peso, administración vía parenteral.

GIII: Tratamiento 1: administración de 5 ml de solución acuosa de caña agria al 20%

GIV: Tratamiento 2: administración de 5 ml de solución acuosa de caña agria al 60%

GV: Tratamiento 3: administración de 5 ml de jugo de caña agria al 80%

### **c. Evaluación de la actividad diurética en RATAS (*Rattus norvegicus*)**

Demostración de la actividad diurética según el método de Naiky y Col. modificado. Se utilizaron 19Ratas, con un peso promedio de 270 -300g. Se utilizaron ratas machos y hembras, de 7 semanas de edad, los mismos que fueron mantenidos en cuarentena durante 7 días con libre disposición de alimentos y agua, controlando la temperatura y ciclos circadianos de doce horas luz, doce horas oscuridad.

Las ratas fueron, privados de agua y comida 18 h antes del experimento y durante el mismo. Se realiza la separación aleatoria a los animales y se procede a administrar los tratamientos a diferentes concentraciones de jugo de caña agria (*Costus spicatus*) por vía oral en un volumen igual a 5 mL; al lote control se administró solución salina de la misma manera que al bloque control positivo más una dosis de furosemida 20mg/Kg peso por vía intraperitoneal, en el mismo volumen de 5 ml.

Luego de la hidratación correspondiente se procede a colocar en jaulas metabólicas adaptadas de forma individual para la recolección de orina, recolectando el volumen de orina cada hora durante un periodo de 6 horas, posteriormente determinar las concentraciones de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> excretados en el volumen final.

Al concluir con el ensayo se realizó los siguientes cálculos a partir de la media de los datos obtenidos

### **Porcentaje de Diuresis Respecto al Blanco**

Es la cantidad de orina de cada tratamiento en relación a la orina promedio del blanco.

$$\% \text{ *dediuresisrespectoalblanco* } = \frac{X - \text{volumen de orina del blanco}}{\text{volumen de orina del blanco}} \times 100$$

Dónde:

X = Volumen de orina del tratamiento X

### **Acción Diurética de los Tratamientos**

Porcentaje de diuresis respecto al grupo control positivo

$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Excreción urinaria del grupo tratado}}{\text{Excreción urinaria del grupo control}} \times 100$$

### **Excreción Urinaria Volumétrica (E.U.V)**

Es el volumen total excretado en relación al volumen total administrado.

$$\text{Excreción urinaria} = \frac{\text{Volumen total excretado}}{\text{Volumen total administrado}} \times 100$$

### **2.3.10. Determinación de electrolitos $Na^+$ , $K^+$ mediante el analizador AVL 9380**

AVL 9380. Analizador de electrolitos versátil. Su característica principal es la de poseer electrodos intercambiables, que permiten configurar al equipo en siete perfiles diferentes. Las calibraciones son rápidas y completamente automáticas.

**Método:** Análisis por electrodo de ion selectivo

**Análisis:** se levanta la puerta de toma de muestra, y el analizador automáticamente hace la aspiración.

Volumen de muestra: 95  $\mu$ L

Tipo de muestra: orina

Tiempo de análisis: 50 seg

Temperatura: 15-32°C

Humedad relativa: 5%-95%

### **2.3.11. Ensayo de toxicidad aguda**

La toxicidad aguda implica determinar la dosis letal media (DL50), definida como una expresión derivada de una sola dosis de una sustancia que pronosticable mente matara al 50 % de los animales.

#### **2.3.11.1. Diseño experimental**

Se emplea 4 ratas, de seis meses de edad de  $270 \pm 10$  g de peso dejándolos en ayunas por 24 horas con agua *ad libitum* y mantenidos a temperatura  $22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ , cumpliendo previamente un periodo de readaptación de 3 días.

Se determina la prueba de toxicidad aguda (DL50) del extracto de acuerdo con las directrices 420 de la OCDE (Organización para la cooperación y el desarrollo económico). Se administró, (vía oral) 5ml de extracto durante tres días cada 24 horas. El periodo de observación fue de 14 días observando la mortalidad y el comportamiento general de los animales tratados. Durante los tres primeros días de administración del extracto se observó cuidadosamente a cada animal a los 30, 60, 120 ,240 y 360 minutos después de la administración del extracto. Luego de los tres días se realizó periódicamente hasta completar los 14 días.

Recogiendo signos y síntomas de toxicidad como grito, actividad general, respuesta al toque, irritabilidad, huida, contorsiones patas posteriores, enderezamiento, tono corporal, convulsiones, micción, lagrimació, pilo erección, defecación, número de muertos. Y además el peso de los animales.

### **2.3.12. Análisis estadístico**

#### **Test de Anova:**

Procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones a la que se divide para sus componentes quedando el residuo con error experimental.

**Coefficiente de varianza:**

Indica el nivel de confianza que se puede tener en los datos.

**Prueba de separación de medias:**

La prueba de Tuckey al 5 % para comprobar que todas las variables estén dentro del margen de error, y determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos realizados

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se expondrán en cuadros los datos experimentales con una media de los valores obtenidos de cada uno de las determinaciones analizadas.

#### 3.1 Control de calidad del vegetal crudo, cañotes de caña agria

**Cuadro1-3:** Control de calidad de la materia prima caña agria (*Costus spicatus*)

PARÁMETRO	( <i>Costus spicatus</i> ) (%)
Determinación de humedad	69.46
Determinación de cenizas totales	0.66
Determinación de cenizas solubles en agua	0.35
Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	0.03

ELABORADO POR: COLOMA, J; 2015

En el cuadro No. 1 los resultados para humedad es de 69.46 %, cenizas totales 0.66 %, cenizas solubles es agua 0.35% y cenizas insolubles en ácido 0.03%. Los valores se encuentran dentro de los límites establecidos por la farmacopea 2002 a excepción de la humedad. Por lo cual esta planta resulta ser eficaz para la obtención de un extracto.

La determinación de humedad el exceso indica la proliferación de hongos, bacterias, presencia de insectos seguido de una hidrolisis de los principios activos modificando de esta manera la actividad farmacológica del vegetal estudiado.

La determinación de cenizas totales es un indicativo de presencia de metales pesados tales como (Pb, Cu, Ni, Zn y C), que pudieron contaminarse durante el proceso de recolección o mucho antes.

La determinación de cenizas insolubles en ácido es indicativa de la presencia de sílica como arena y tierra. Lo que nos permite conocer si se ha realizado u adecuado proceso de lavado para su uso posterior.

### 3.2 Control de calidad del extracto de caña agria (*Costus spicatus*).

Se realizó el control de calidad del extracto (jugo) obtenido por presión de los cañotes sin bagazo de caña agria (*Costus spicatus*).

#### 3.2.1 Determinación de requisitos organolépticas del jugo de caña agria (*Costus spicatus*).

**Cuadro 2-3:** Control de calidad del extracto de caña agria (*Costus spicatus*)

Parámetro	Resultado
Aspecto	Homogéneo
Color	Amarillo tenue
Olor	olor cítrico
Sabor	agridulce

ELABORADO POR: COLOMA, J; 2015

El cuadro No 2. Muestra los parámetros de la valoración de los requisitos organolépticos del extracto de caña agria (*Costus spicatus*), los mismos que están acorde con las peculiaridades propias del vegetal. Presenta un aspecto homogéneo con coloración amarillo tenue, libre de partículas extrañas; olor cítrico; sabor agridulce.

#### 3.2.2 Determinación de los parámetros físico- químicos

**Cuadro 3-3:** Determinación de los parámetros físico- químicos

Parámetro	Resultado
Densidad	0.986 g/ml
pH	4.89
Índice de refracción	1.27
Sólidos totales	1.38

ELABORADO POR: COLOMA, J; 2015

Los resultados obtenidos en el extracto de caña agria muestran una densidad de 0.986 g/ml, cercano a la del agua. El pH se refiere al potencial de iones de hidrógeno, de acuerdo a una escala se puede determinar qué tan ácida o básica es una muestra. El pH es de 4.89 ligeramente ácido. Lo que evitaría la degradación y la proliferación de microorganismos rápidamente. Con un índice de refracción de 1.27 este parámetro nos da información de una presencia considerable de sustancia disuelta sólido soluble.

El porcentaje de sólidos totales nos permite valorar la cantidad total de materia dispersa en el medio. Particularmente residuos orgánicos, obteniéndose un porcentaje de 1.38 %, indicativo de la cantidad de metabolitos secundarios presentes.

### 3.3 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fotoquímico es un procedimiento que permite identificar cualitativamente los componentes químicos que presenta el vegetal en estudio.

**Cuadro 4-3:** Resultados de calidad cualitativa (tamizaje fitoquímico) de caña agria (*Costus spicatus*)

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	EXTRACTO ETEREO	EXTRACTO ETANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Compuestos grasos	Sudan III	(-)		
Cumarinas	Baljet		(+)	
Alcaloides	Dragendorff	(-)	(+)	(+)
	Mayer	(-)	(+)	(+)
	Wagner	(-)	(+)	(+)
Catequinas	Catequinas		(-)	
Triterpenos y esteroides	Lieberman – Buchard		(-)	
Resinas	Resinas		(-)	
Azúcares reductores	Fehling		(+++)	(+)
Saponina	Espuma		(-)	(-)
Taninos y fenoles	Cloruro Férrico		(-)	(-)
Quinonas	Borntrager		(-)	
Flavonoides	Shinoda		(+++)	(+++)
	Antocianidina		(+)	

(-): Sin evidencia del metabolito; (+): Baja evidencia; (++): Evidencia considerable; (+++): Alta evidencia

El tamizaje fitoquímico se realiza con tres tipos de extractos elaborados por extracciones sucesivas para lograr la mayor extracción con solventes de polaridad creciente de los compuestos químicos presentes en el material vegetal. Los compuestos extraídos se denominan metabolitos secundarios, con los siguientes solventes: éter di etílico, etanol 96% y agua.

El Tamizaje fitoquímico indica la presencia de compuestos como: flavonoides, alcaloides, cumarinas, y azúcares reductores, que están presentes en el tallo de las cañas agrias sin corteza, y según bibliografía en la composición química contiene presencia de flavonoides como: Kaempferol, delfinidin, quercetina.

De acuerdo a la polaridad los principios activos son extraídos en los respectivos solventes. Los flavonoides están presentes en gran cantidad en el tallo lo que le otorga propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, anticancerígeno, antiespasmódicas y diuréticas.

### 3.4 Análisis cromatográfico

#### 3.4.1 Análisis cromatográfico de flavonoides

**Cuadro 5-3:** Determinación de flavonoides según su Rf en cromatografía de capa fina del jugo de caña agria (*Costus spicatus*). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Abril 2015.

TLC-EXTRACTO METANOLICO	Cálculo de Rf	Compuesto	Especificación
	$R_f = \frac{4,75}{6,5} = 0,73$	Kaempferol	0.77

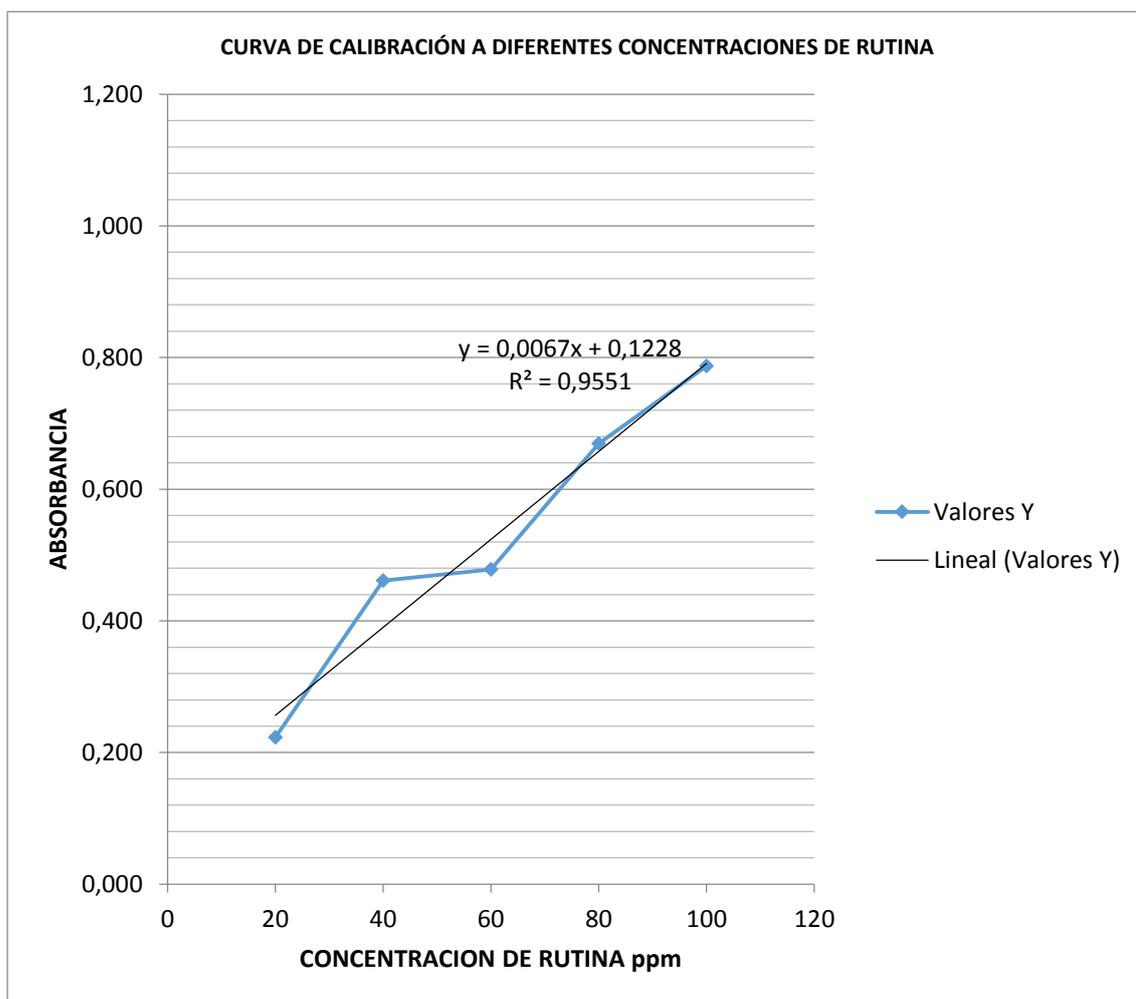
**Fotografía No. 1: Placa cromatografía del extracto caña agria (*Costus spicatus*)”**

En la cromatografía en capa fina, el posible flavonoide identificado a partir de su Rf calculado. Este Rf se comparó con los citados por Wagner H. 1996 y Sarié, M. 2003 Para estándares de flavonoides, por lo cual es posible que se trate del siguiente compuesto: kaempferol (WAGNER, H. 1996. p 59)

### 3.5 Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales expresado como porcentaje de rutina.

Para la curva de calibración la lectura se realizó una longitud de onda de 510 nm, y como estándar rutina. Para la determinación de flavonoides totales presentes en el jugo de caña agria con un promedio de tres repeticiones, se obtuvieron los siguientes resultados.

El cálculo de la concentración de flavonoides se obtuvo a partir de la ecuación de la curva de calibración de rutina realizada anticipadamente al ensayo. A continuación se muestra los resultados obtenidos tanto de la curva de calibración y las lecturas de absorbancia para las muestras:



**Gráfico 1-3:** Curva de calibración de rutina

La curva de calibración obtenida de rutina a las concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm; Los valores de absorbancia obtenidos aumentan de acuerdo a la concentración de rutina teniendo así la ecuación de la curva  $y = 0,0067x + 0,1228$  que permite calcular la concentración de flavonoides totales para las muestra problema.

**Cuadro 6-3:** Resultados de la medición de absorbancia en el jugo de caña agria (*Costus spicatus*)

Muestra	Absorbancia
1	0.467
2	0.563
3	0.479
Promedio	0.503

**Cuadro 7-3:** Determinación de concentración de flavonoides totales de caña agria (*Costus spicatus*). Laboratorio de química instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Abril. 2015.

Absorbancia	Concentración en ppm ( $\mu\text{g}$ de rutina /mL de extracto)	Porcentaje de flavonoides totales
0.503	56.75	0.56

Los resultados obtenidos de la concentración de flavonoides totales presentes en el extracto de jugo de caña agria en función de rutina encontrándose un porcentaje de flavonoides totales de 0.56 %, lo que ratifica los resultados obtenidos en el análisis cualitativo.

Cálculos:

$$y = 0,0067x + 0,1228$$

$$Y = a + bx$$

$$A = a + bc$$

$$A = 0,0067c + 0.1228$$

$$c = \frac{0.503 - 0.1228}{0.0067} = 56.75 \text{ ug/ml}$$

$$\frac{56.75 \text{ug}}{1 \text{ml}} \times \frac{100 \text{ml}}{1 \text{mg}} \times \frac{1 \text{mg}}{1000 \text{ug}} \times \frac{1 \text{g}}{1000 \text{mg}} \times 100 = 0.56 \%$$

### 3.6 Evaluación de la actividad diurética del jugo de caña agria (*Costus spicatus*) en ratas (*Rattus norvegicus*).

**Cuadro 8-3:** Resultados promedio del ensayo farmacológico de diuresis a diferentes concentraciones de jugo de caña agria (*Costus spicatus*).

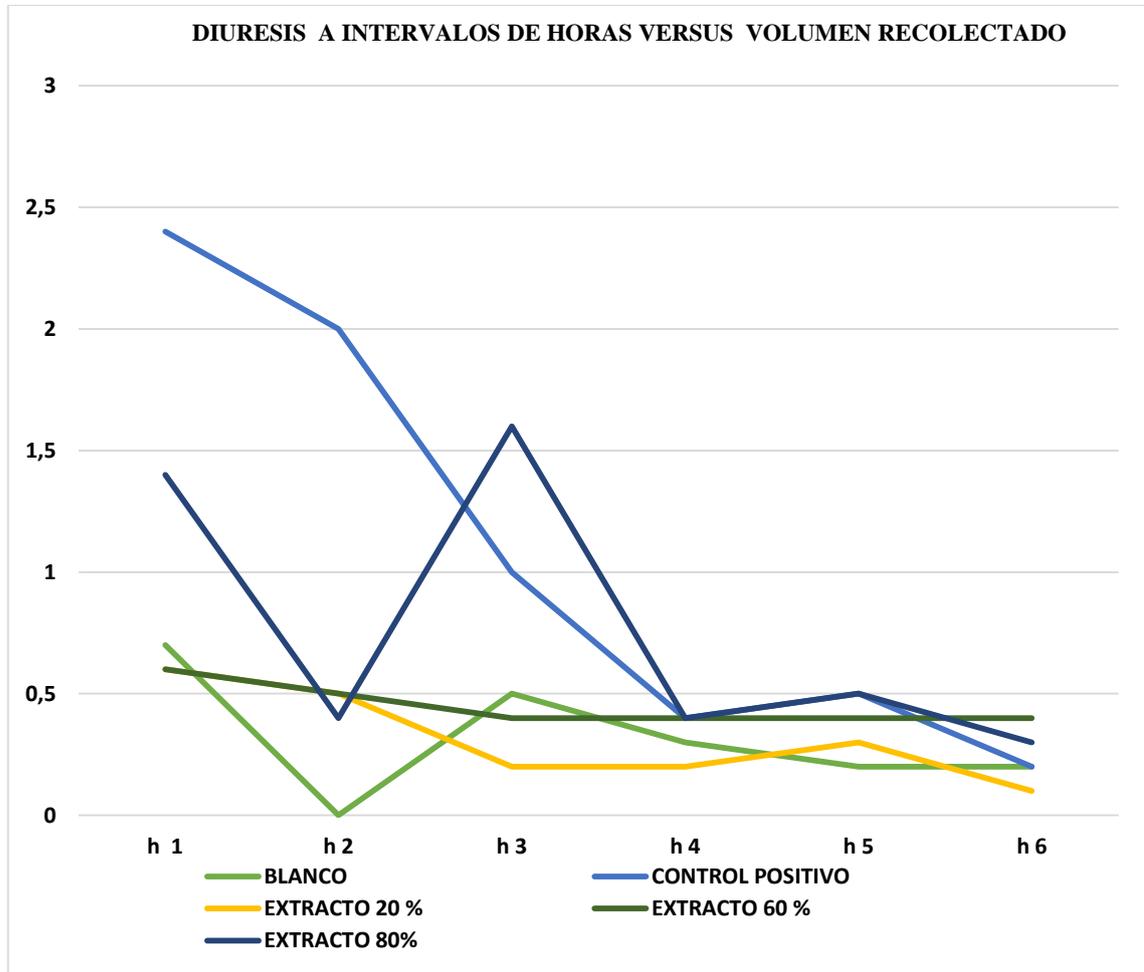
VOLUMEN DE ORINA DE LOS BLOQUES POR HORAS									
TRATAMIENTOS	BLOQUES	1	2	3	4	5	6	VOLUMEN TOTAL(ml)	PROMEDIO DE VOLUMEN FINAL (ml)
Blanco (SF)	B1	0.3	0.7	-	0.5	-	0.2	1.7	1.8
	B2	0.7	-	0.5	0.3	0.2	0.2	1.9	
	B3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.5	-	1.8	
Control positivo (furosemida)	C1	1	1.6	1.4	0.2	0.5	0.1	4.8	5.8
	C2	2.4	2	1	0.4	0.5	0.2	6.5	
	C3	2	1.5	1.6	0.5	0.6	0.1	6.3	
Extracto al 20 %	JA1	0.6	0.5	0.2	0.2	0.3	0.1	1.7	2
	JA2	0.5	0.4	0.3	0.4	0.2	0.3	2.1	
	JA3	0.6	0.5	0.3	0.2	0.4	0.3	2.3	
Extracto al 60 %	JB1	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	2.7	2.7
	JB3	0.6	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	2.7	
	JB4	0.5	0.5	0.4	0.4	0.5	0.4	2.7	
Extracto al 80%	JC1	1	1.8	0.4	0.2	0.5	0.5	4.4	4.6
	JC2	1.4	0.4	1.6	0.4	0.5	0.3	4.	
	JC3	1	1.7	0.4	0.5	0.6	0.5	4.7	

Control positivo =Furosemida (20mg/Kg)

T1 = subextracto de jugo de caña agria al 20 %

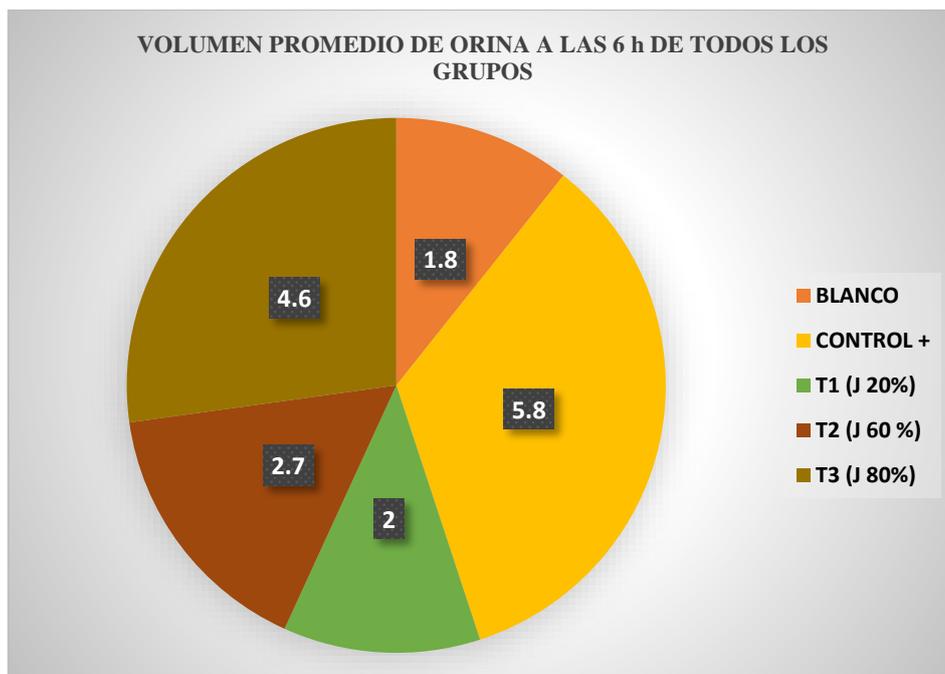
T2 = subextracto de jugo de caña agria al 60 %

T3 = subextracto de jugo de caña agria al 80 %



**Gráfico2-3:** Volúmenes (ml) de orina durante cada h por seis hs de los diferentes grupos

El mayor volumen de diuresis con respecto a la furosemida se da a la 1 hora con un volumen de 2.4 ml y a la segunda hora 2 ml con disminución del volumen, seguida del extracto de 80 % con mayor volumen de diuresis a la 3 h con un volumen de 1.6 ml seguido de la 1 hora con un volumen de 1.4 ml. Mientras que con el blanco, el extracto al 20 %, extracto al 60 % el mayor volumen de diuresis es a la 1 h con un volumen de 0.7 ml, 0.6 ml, 0.6 ml. Volumen inferior a los demás grupos.

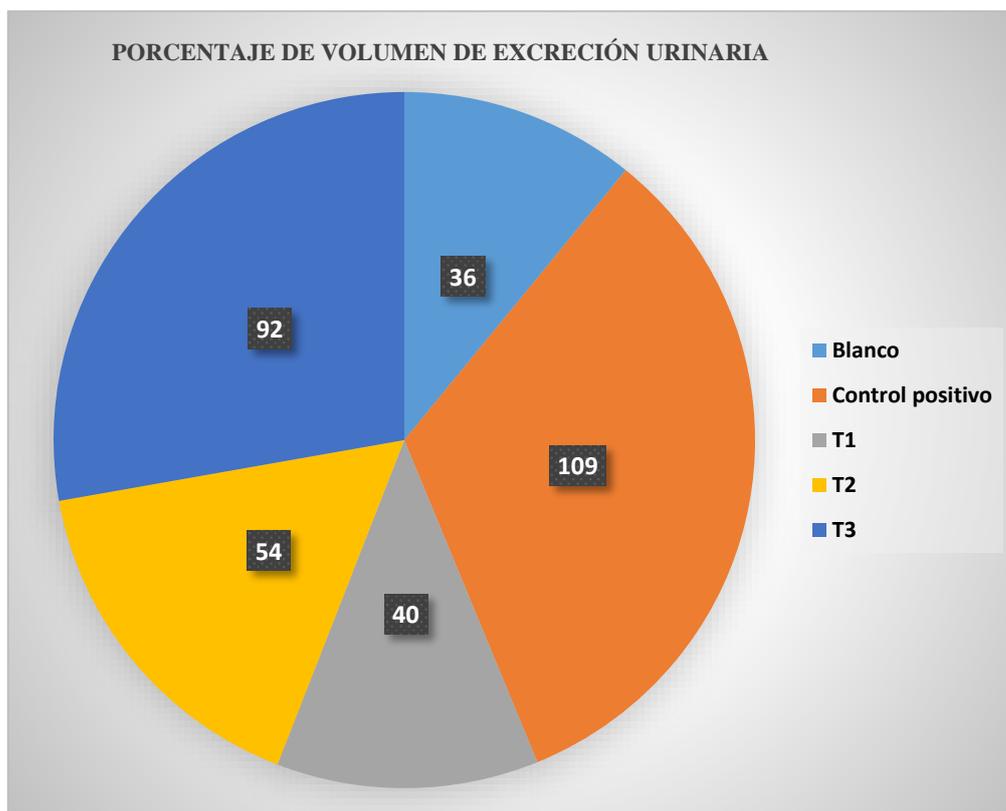


**Gráfico3-3:** Promedio de los volúmenes (ml) al final del ensayo de diuresis a diferente concentraciones del extracto de caña agria (*Costus spicatus*).

Se distingue que el promedio del volumen del control positivo del fármaco furosemida es mayor a todos los tratamientos con un volumen excretado de 5.8 ml se muestra claramente la actividad diurética , seguido del tratamiento 3 del jugo de caña agria al 80 % con un volumen excretado de 4.6 ml casi similar al grupo control (furosemida) , seguido el tratamiento al 60 % de jugo de caña agria con un volumen de 2.7 ml de orina eliminada y continuando con el tratamiento de jugo de caña agria al 20% con un volumen de orina de 2 ml y finalmente el blanco con un volumen de orina de 1.8 ml .

**Cuadro 9-3:** Cálculo del volumen de excreción urinaria para cada uno de las concentraciones.

TRATAMIENTOS	VOLUMEN PROMEDIO FINAL (mL)	%
BLANCO	1.8	36
CONTROL POSITIVO	5.8	109
T1	2	40
T2	2.7	54
T3	4.6	92

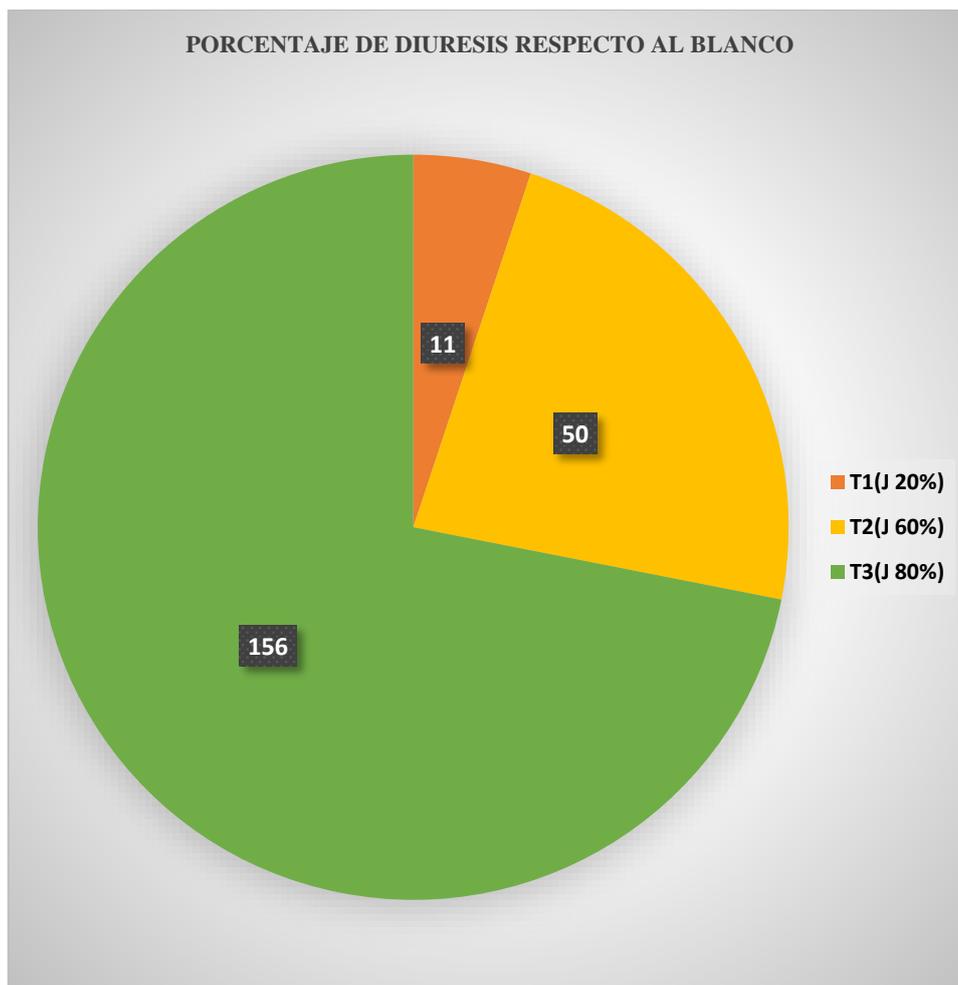


**Gráfico4-3:** Porcentaje de volumen de excreción de cada uno de los grupos.

La cantidad de orina excretada en relación al volumen administrado (5 mL) en cada uno de los tratamientos incluyendo al blanco y al control positivo, así de esta manera en porcentaje el volumen excretado de orina para el blanco que es del 36%, para el control positivo (furosemida) 109%, y para cada uno de los tratamientos T1 = 40%, T2 = 54%, T3 = 92% ; podemos apreciar que el control positivo presenta mayor volumen de excreción orina en relación al volumen administrado que es de 5 mL, en los tratamientos el que mejor volumen de excreción presento fue el T3 que elimino en un 92% el volumen administrado presentando una diuresis efectiva, seguidamente del T2 y T1 , porcentajes superiores al del blanco .

**Cuadro 10-3:** Porcentaje de diuresis respecto al blanco del extracto de caña agria (*Costus spicatus*) a sus diferentes concentraciones.

TRATAMIENTOS	VOLUMEN PROMEDIO FINAL (ml)	PORCENTAJE
T1	2	11
T2	2.7	50
T3	4.6	156
Furosemida	5.8	222

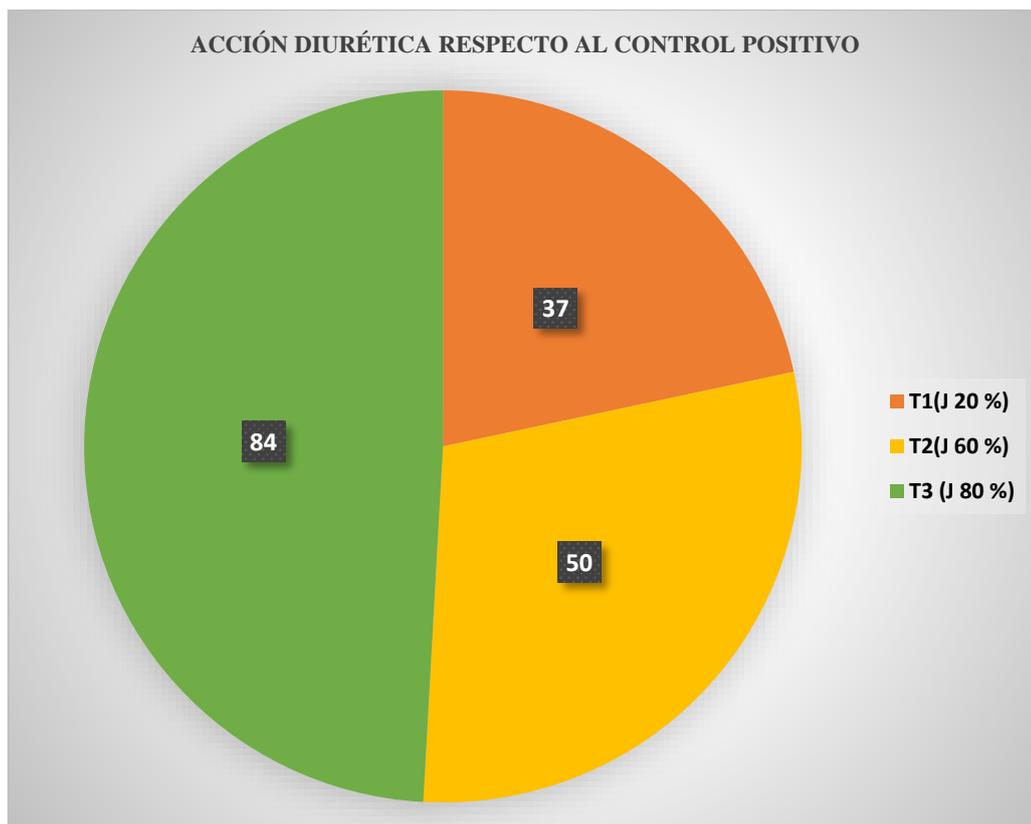


**Gráfico5-3:** Porcentaje de diuresis respecto al blanco del extracto de caña agria (*Costusspicatus*) a sus diferentes concentraciones.

El porcentaje de diuresis respecto al blanco así observándose que el tratamiento T3 posee una buena actividad diurética del 155% respecto al volumen del blanco que es de 1.8ml, seguidamente del T2 con el 50% Y los tratamientos T1 posee 11%.

**Cuadro 11-3:** Porcentaje de diuresis respecto al control positivo furosemida (20 mg/Kg peso) de jugo de caña agria (*Costus spicatus*) a sus diferentes concentraciones.

TRATAMIENTOS	VOLUMEN PROMEDIO FINAL (mL)	PORCENTAJE
T1	2	37
T2	2.7	50
T3	5.6	84



**Gráfico6-3:** Porcentaje de diuresis respecto al control positivo furosemida (20 mg/Kg peso) de jugo de caña agria (*Costus spicatus*) a sus diferentes concentraciones.

La acción diurética respecto al control positivo furosemida teniendo así para el T1 un 37%, T2 un 50%, T3 un 84%; de esta manera el T3 posee el mayor porcentaje de acción diurética frente a los demás tratamientos seguidamente del T2, sin embargo el T2 solo es aproximadamente al 50% de actividad diurética en relación al control positivo (furosemida) a una concentración de 60 % de jugo de caña agria.

### 3.6.2 Análisis estadístico

A continuidad se muestra el análisis estadístico para los volúmenes promedio finales a las 6 horas de ensayo farmacológico de cada uno de los tratamientos estudiados, los valores estadísticos expuestos fueron obtenidos mediante la utilización del software G-STAT Student el cual también se utilizó para el análisis de varianza ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples TUKEY.

**Cuadro 12-3:** Análisis estadístico de los tratamiento utilizados en el ensayo farmacológico de la actividad diurética de jugo de caña agria (*Costus spicatus*)  
Producción de orina durante las seis horas

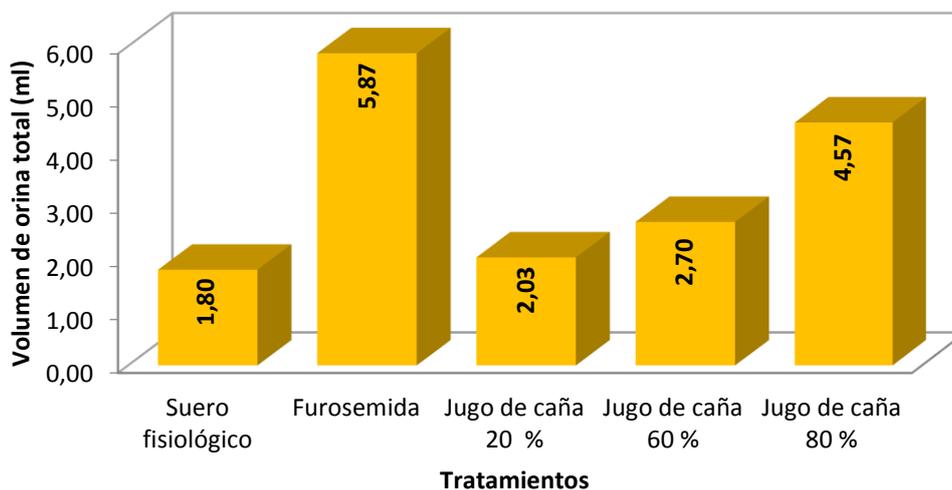
Variables	Tratamientos									E.E.	Prob.
	Suero fisiológico	Furosemida	Jugo de caña 20 %	Jugo de caña 60 %	Jugo de caña 80 %						
1 hora	0.43 ab	1.80 a	0.57 b	0.53 b	1.13 B	0.21	0.00				
2 hora	0.50 b	1.70 a	0.47 b	0.50 b	1.30 ab	0.23	0.01				
3 hora	0.45 b	1.33 a	0.27 b	0.43 b	0.80 B	0.21	0.04				
4 hora	0.37 a	0.37 a	0.27 a	0.40 a	0.37 A	0.07	0.72				
5 hora	0.35 b	0.53 a	0.30 b	0.43 b	0.53 B	0.06	0.06				
6 hora	0.13 b	0.13 b	0.23 ab	0.40 a	0.43 A	0.05	0.01				
total	1.80 c	5.87 a	2.03 c	2.70 c	4.57 B	0.26	0.00				

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey ( $P < 0,05$ ).

E.E.: Error Estandar.

Prob: Probabilidad.

La utilización de furosemida en ratas permitió registrar una producción de orina total de 5.87 ml durante un control de 6 horas, valor que difiere significativamente del resto de tratamientos, puesto que al utilizar suero fisiológico, jugo de caña agria al 20 %, jugo de caña agria al 60 % y jugo de caña agria al 80 % permitió registrar producciones de orina de 1,80, 2,03, 2,70 y 4,57 ml. El volumen de 4.57 ml que presenta el extracto al 80 % debido a la concentración de flavonoides.



**Gráfico7-3:** Análisis del volumen final de los tratamientos

**Cuadro 13-3:** Análisis de varianza para los volúmenes promedio finales de cada tratamiento ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total		14	39,07		
Tratamientos		4	37,09	9,27	46,83
Error		10	1,98	0,20	0,00
CV %				13,11	
Media				3,39	

El volumen total de orina producido en las ratas según el ADEVA (cuadro 8), permite aceptar la Hipótesis puesto que existe diferencias estadísticas ( $P < 0.01$ ) entre las medias de los tratamientos.

**Cuadro 14-3:** Análisis de comparaciones múltiples (test de tukey), para los volúmenes promedio finales de cada tratamiento

Separación de Medias según Tukey ( $P < 0.05$ )

Tratamientos	Media	Rango
Suero fisiológico	1,80	c
Furosemida	5,87	a
Jugo de caña 20 %	2,03	c
Jugo de caña 60 %	2,70	c
Jugo de caña 80 %	4,57	b

El uso de Furosemida en ratas permitió registrar una producción de orina de 5.87 ml, valor que difiere significativamente según Tukey ( $P < 0.05$ ) del resto de tratamientos tales como el suero fisiológico, jugo de caña 20, 60 y 80 % con los cuales se registró 1.80, 2.03, 2.70 y 4.57 ml de orina respectivamente (cuadro 9), el jugo de caña al 80 % se observa que funciona como un producto diurético, similar mas no igual ala furosemida.

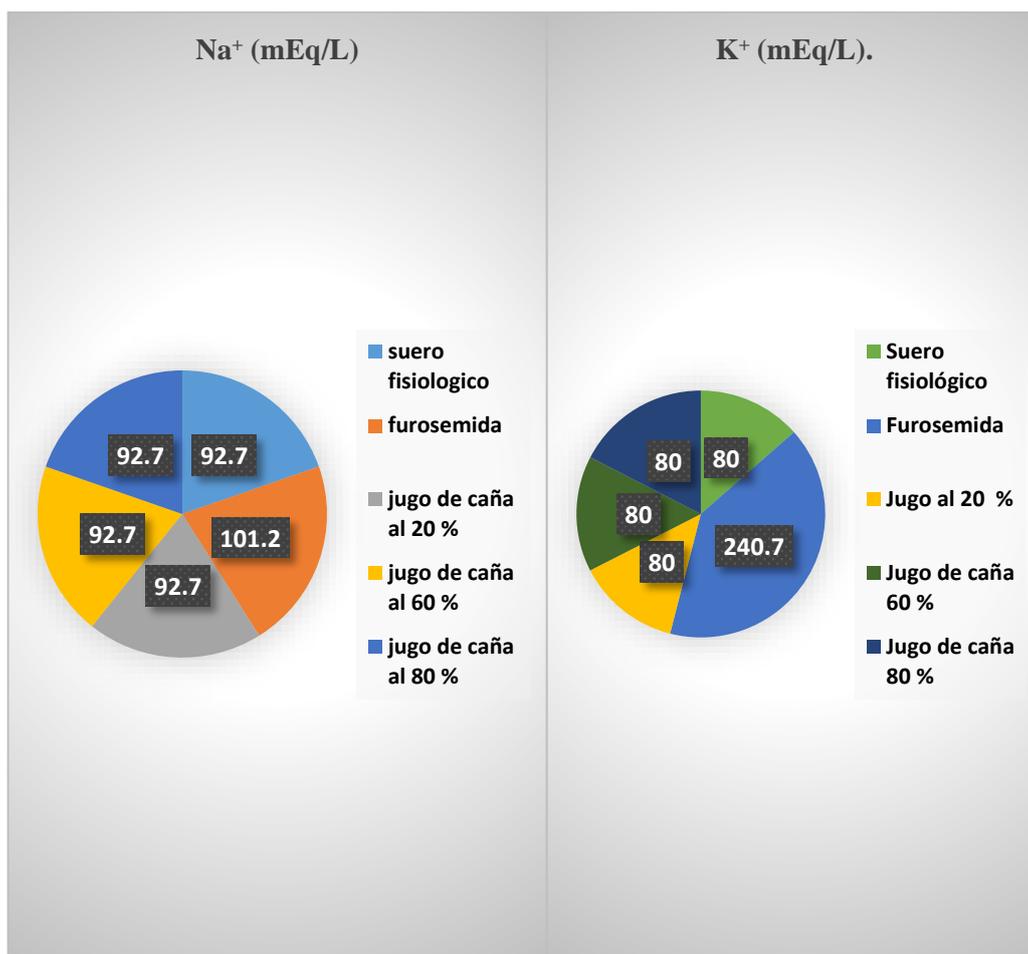
### 3.6.3 Electrolitos urinario

Finalizado el experimento, se cuantificó  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  excretados en el volumen final de orina, como se muestra en el cuadro.

**Cuadro 15-3:** Resultados de efecto farmacológico sobre algunos indicadores urinarios en ratas

Tratamiento	Concentración de electrolitos (mEq/L)	
	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$
Suero fisiológico	92.7	80
Furosemida	101.2	240.7
extracto al 20 %	92.7	80
Extracto al 60 %	92.7	80
Extracto al 80 %	92.7	80

Valores expresados en media.



**Gráfico 8-3:** Concentración de Na<sup>+</sup>

**Gráfico 9-3:** Concentración de K<sup>+</sup>

Con el control negativo (suero fisiológico) se obtuvo Na<sup>+</sup> 92.7 mEq/L, al igual que la excreción de K<sup>+</sup> 80 mEq/L, siendo igual al de los tratamientos

La eliminación de Na<sup>+</sup> producida por la furosemida (101.2 mEq/L) es mayor que la de los extractos de caña agria y del grupo control negativo, al igual que la excreción de K<sup>+</sup> (240.7 mEq/L) siendo superior a los demás grupos. Mostrando que el jugo de caña agria no tiene acción sobre los electrolitos.

### 3.7 Evaluación de la toxicidad aguda del extracto de caña agria (*Costus spicatus*)

Resultados de la determinación de la toxicidad aguda en dosis repetida realizado en el Bioterio de la escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias ESPOCH Marzo a Abril 2015.

Para el estudio de la toxicidad aguda se utilizó 4 ratas (*Rattus norvegicus*) a las cuales se les asignó un código individual que permite la identificación para el estudio de los signos a evaluar.

**Cuadro 16-3:** Parámetros evaluados en la toxicidad aguda

SIGNOS DE TOXICIDAD	Valoración	BLANCO	R1	R2	R3
		DÍAS	DÍAS	DÍAS	DÍAS
		1234567	1234567	1234567	1234567
Actividad general	5	5555555	5555555	5555555	5555555
Grito	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Irritabilidad	0	0000000	0000000	0000001	0000000
Respuesta al toque	5	5555555	5555555	5555555	5555555
Huida	5	5555555	5555555	5555555	5555555
Contorsiones	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Patas posteriores	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Enderezamiento	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Tono corporal	5	5555555	5555555	5555555	5555555
Convulsiones	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Lagrimación	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Micción	5	5555555	5555555	5555555	5555555
Defecación	5	1000010	0000111	1010100	1000111
Piloerección	0	0000000	0000000	0000000	0000000
Números de muertos	0	0000000	0000000	0000000	0000000

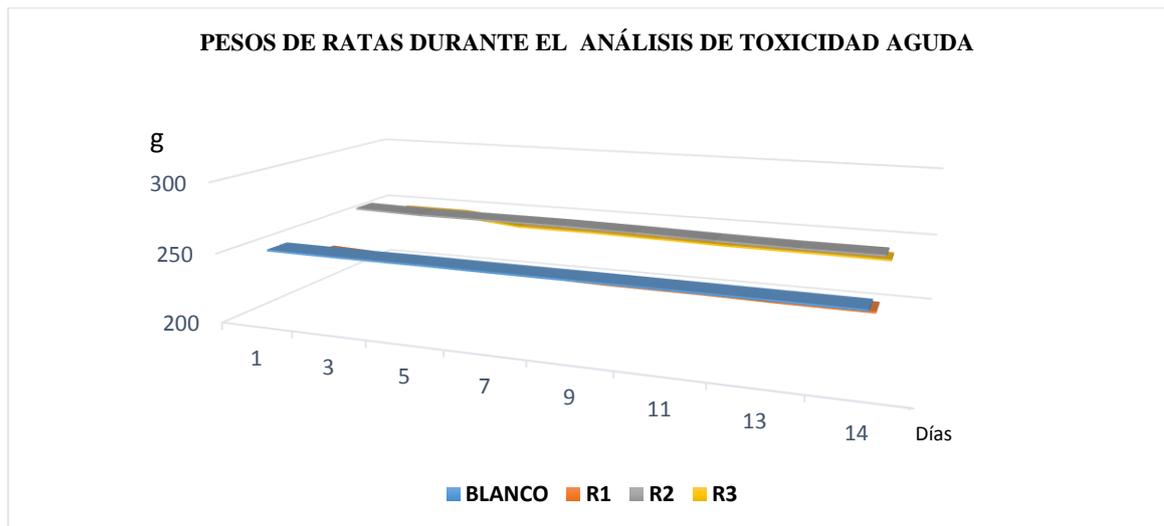
Los signos examinados durante los 14 días que duró el ensayo, para determinar la presencia de toxicidad aguda. Se atribuyó arbitrariamente los valores de los parámetros de 0 y 5 a partir de aquellos que son calificados normales. Luego del ensayo se mostró que no hubo efectos colaterales en los parámetros de evaluación.

Con los resultados obtenidos se puede decir que el extracto del tallo de caña agria (*Costus spicatus*) utilizado, no posee ningún efecto toxico.

**Cuadro 17-3:** Valores obtenidos de la medición del peso en gramos durante el análisis de toxicidad aguda (dosis repetida)

GRUPO	DIAS							
	1	3	5	7	9	11	13	14
Blanco	250.7	250.4	250.4	250.1	250	249.8	249.5	249.2
R1	235.4	233.3	233.4	233.4	232.3	232.1	231.4	231.2
R2	258.3	257.1	257.2	257.1	256.3	255.1	254.3	254.2
R3	245.3	245.1	240.2	240.1	239.2	238.1	237.8	237.3

Los parámetros analizados no presentan alteración, el único factor cambiante es el de la micción presente a lo largo del ensayo farmacológico.



**Gráfico10-3:** Pesos de las ratas durante el análisis de toxicidad aguda.

Los pesos durante el ensayo toxicológico, muestra una leve variación, con una disminución leve a medida que avanza el ensayo, esto debido a la diuresis.

## CONCLUSIONES

Del estudio de la evaluación del efecto diurético del jugo de caña agria (*Costus spicatus*) en ratas de experimentación se desprenden las siguientes conclusiones:

- Las características físico química y de calidad de (*Costus spicatus*) cumplen con las especificaciones establecidas en la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos a excepción de la humedad , los resultados obtenidos en el control de calidad de los cañotes de caña agria, muestra, humedad 69.46 %, cenizas totales 0.66 %, cenizas solubles en agua 0.35 % y cenizas insolubles en ácido 0.03%. El control de calidad del jugo de caña agria indico un olor característico, color amarillo tenue, sabor agridulce, densidad de 0.986 g/mL, índice de refracción de 1.27, pH de 4.89.
- En el tamizaje fitoquímico realizado a los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la caña agria (*Costus spicatus*) se comprobó la presencia de varios metabolitos secundarios como: flavonoides, alcaloides, cumarinas, y azúcares reductores, que están presentes en el tallo de las cañas agrias sin corteza.
- Mediante el análisis cromatográfico TLC realizado sobre placa Sílica Gel 60 F254 con un sistema de solventes:cloroformo – acetona – ácido fórmico ((75:16.5:8.5) v/v), se determinó un Rf 0.73 el cual pertenece presumiblemente al kaempferol según referencia bibliográfica (WAGNER, H. 1996)
- Por cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales (Método del  $AlCl_3$ ) expresados como rutina se determinó 0.56 % por gramo de (*Costus spicatus*).
- Según el análisis de ANOVA a un nivel de confiabilidad del 95%, se confirmó la hipótesis, determinando que el ensayo realizado con el extracto al 80 % demuestra una actividad diurética del 84 % respecto al control positivo (furosemida) y un 156 % en relación al Blanco (solución salina 0.9% NaCl) de caña agria (*Costus spicatus*).
- Los parámetros controlados del ensayo toxicológico no presentaron efectos colaterales para el jugo de caña agria (*Costus spicatus*) a dosis máxima de 80 % durante los 14 días.
- Al finalizar la investigación se concluye que los grupos tratados con extracto de jugo de caña agria (*Costus spicatus*) a diferentes dosis frente a un grupo control positivo (furosemida) presenta actividad diurética a la dosis administrada, de 80% llegando a ser similar al medicamento utilizado como control positivo. Al estudiar la excreción de electrolitos se puso en evidencia que todos los extractos de “ caña agria ” presentan la misma capacidad de eliminación al igual que el grupo control negativo , resultando significativamente inferior al efecto producido por la furosemida. Por lo que se podría decir que presenta una diuresis de tipo no electrolítico.

## RECOMENDACIONES

- Continuar los estudios de la planta para determinar si la actividad diurética atribuida a la misma se encuentra presente en otras partes de la planta.
- Elaborar un Fito medicamento diurético a partir del extracto del tallo de caña agria (*Costus spicatus*).

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 1. APESTEGUÍA, I.**, Efecto diurético del zumo del fruto del limón. TESIS. Facultad de farmacia y Bioquímica., Ciencias.Universidad nacional mayor de San Marcos., Lima-Perú., 2009., pp.20-32  
[cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2014-04-15](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2014-04-15)
- 2. ANIMALES DE LABORATORIO.** Bioterío de la Escuela de Biotecnología y Salud del Tecnológico de Monterrey.  
[http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Biologia\\_Animales\\_Laboratorio.pdf](http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Biologia_Animales_Laboratorio.pdf)  
2014-03-15
- 3. BRUNETON, J.**, Farmacognosia. Fitoquímica., Plantas medicinales., 2a ed., Zaragoza–España., Acribia., 2001., pp. 115-119.
- 4. BAKER, J.** y otros. The Laboratory Rat .Vol I y II., New York, Academic Press, Inc., 1980., pp.5-8
- 5. BUYO, M. Arribas, I.** Trastornos hemodinámicos: Edema, hipermemia y congestión, hemorragia, hemostasia y trombosis. 2006. pp.17-18  
[http://eusalud.uninet.edu/apuntes/tema\\_09.pdf](http://eusalud.uninet.edu/apuntes/tema_09.pdf)  
2014-04-15
- 6. CASTAÑEDA, C.**, Evaluación del Efecto Antiinflamatorio del Extracto Acuoso de las Semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho), en Animales de Experimentación. Horizonte Médico. Vol.2, No. 1. Perú., 2002., pp. 15.
- 7. CUADRO NACIONAL DE MEDICAMENTOS BASICOS.** CNMB 9ª ed. 2014.  
[www.conasa.gob.ec/index.php?option=com\\_content...cnmb](http://www.conasa.gob.ec/index.php?option=com_content...cnmb)  
2014-04-2
- 8. CASTELLS, E. Y OTROS. HIPERTENSIÓN ARTERIAL**  
<http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Eme>  
2014-03-15

**9. ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN MODELOS ANIMALES**

[http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S1726569X2007000100004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S1726569X2007000100004&script=sci_arttext)  
2015-06-02

**10. FLÓREZ, J., Armijo, A.** Fármacos diuréticos.

[http://www.hvil.sld.cu/bvs/archivos/638\\_47farmacos%2520diureticos.pdf](http://www.hvil.sld.cu/bvs/archivos/638_47farmacos%2520diureticos.pdf).  
2014-03-15

**11. FÁRMACOS DIURÉTICOS**

[http://www.hvil.sld.cu/bvs/archivos/638\\_47farmacos%2520diureticos.pdf](http://www.hvil.sld.cu/bvs/archivos/638_47farmacos%2520diureticos.pdf)  
2015-06-01

**12. GRANDA, M.** y otros. Perspectivas de utilización en gran escala de plantas medicinales en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, 1982., pp.7-24

**13. GARCÍA N.**, Saber y hacer sobre plantas medicinales. Ciudad de la Habana-Cuba. 1995.

[unvirtual.medellin.unal.edu.co/.../TallerExtracciónAceitesEsenciales05m](http://unvirtual.medellin.unal.edu.co/.../TallerExtracciónAceitesEsenciales05m)  
2014-05-14

**14. HOOGESTEGER, C.**, Uso de plantas Medicinales., México.D.F.-México. Árbol Editorial. S.A., C.V., 1994., pp.26-29.

**15. LOCK, O.**, Colorantes Naturales. Editorial de la Pontificia. Lima-Perú. 1997. pp.84-85

<http://www.digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puidi/INF-2006-032.pdf>  
2015-06-05

**16. LOPEZ, M.** Plantas medicinales con acción diurética.

[http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet? f=10&pident\\_articulo=13761&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=04v20n01a01015pdf001.pdf&ty=81&accion=L&o](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet? f=10&pident_articulo=13761&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=04v20n01a01015pdf001.pdf&ty=81&accion=L&o)  
2015-02-19

**17. MARTÍNEZ, A.**, Flavonoides. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia Medellín-Colombia. 2005. pp.22, 27.

<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf>  
2014-05-17

**18. MEDICINA TRADICIONAL, OMS**

[www.diccionariosdigitales.net/.../FARMACIA-4-PLANTAS%20MEDICI](http://www.diccionariosdigitales.net/.../FARMACIA-4-PLANTAS%20MEDICI)  
2014-10-30

**19. MIRANDA, M.**, Farmacognosia y productos naturales., La Habana-Cuba. Universidad de la Habana., 2006., pp. 32-44, 56-62.

**20. MIRANDA, M.**, Farmacognosia y Productos naturales. La Habana-Cuba., Panamericana., 2000., pp. 40-60

**21. MODELOS ANIMALES**

<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8404/1/Control%20de%20calidad.pdf>  
2015-06-02

**22. MUÑOZ, J. y otros.**, La habilidad para sujetar y manejar animales de laboratorio no se adquiere fácilmente. REDVET. *Revista electrónica de Veterinaria*. Vol. 12, Nº 5B. Zacatecas-México., 2010., pp. 15-18

[www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050511B/051116.pdf](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050511B/051116.pdf)  
2015-04-20

**23. MUÑOZ, J. y otros.**, El uso de animales en el laboratorio de experimentación. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*. Vol. VIII, Nº 2., Zacatecas-México 2007., pp. 2

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107/010711.pdf>  
2015-04-20

**24. NUÑEZ, J.**, Tratado de libre comercio Bolivia-Estados Unidos. La Paz. 2005.

[http://www.dspace.utpl.edu.ec/.../UTPL\\_Tinoco\\_Lara\\_Daniela\\_EstefanIa\\_1133781...](http://www.dspace.utpl.edu.ec/.../UTPL_Tinoco_Lara_Daniela_EstefanIa_1133781...)  
2014-10-30

**25. OCAMPO, Z. CRUZ, A.**, Usos medicinales de la caña de jabalí (*Costus spicatus* (Jacq.) Sw.) Escuela de Enfermería., Universidad Autónoma del Estado de Morelos., Cuernavaca-México., Instituto Nacional Indigenista INI. 2010., pp.1-2.

**26. OWEN, T.**, Fundamentos de la espectroscopia UV-visible moderna., 2000., Alemania.

<http://www.chem.agilent.com/Library/primers/Public/5980-1397ES.pdf>  
2015-04-18

27. **OSORIO, J.**, ASPECTOS BÁSICOS DE FARMACOGNOSIA. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. 2009. pp.18.  
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf>  
2014-05-17
28. **OMS.**, Formulario Modelo. 2004.  
<http://archives.who.int/eml/wmf/2004/Spanish/pdf/Sec16-04.pdf>  
2014-05-14
29. **OLAYA, M., MENDEZ, A.**, Guía de plantas y productos medicinales. Bogotá-Colombia. 2003.  
[unvirtual.medellin.unal.edu.co/.../TallerExtracciónAceitesEsenciales05m](http://unvirtual.medellin.unal.edu.co/.../TallerExtracciónAceitesEsenciales05m)  
2014-05-14
30. **PÉREZ, M. y otros.**, Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad Diurética. *Revista Latinoamericana de Hipertensión.*, vol. 6. 2011., Caracas-Venezuela. pp. 35-40.
31. **PALOMINO, L. y OTROS.**, Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.* Vol. 16, No. 3. Antioquia-Colombia., 2009., pp. 1-8.
32. **PONZ, E.** La medicina tradicional de la tacana y el machineri. PIEB. La Paz-Bolivia. 2005.  
[bivica.org/upload/ag\\_medicina-tradicional\\_tacana.pdf](http://bivica.org/upload/ag_medicina-tradicional_tacana.pdf)  
2014-05-14
33. **RUSSO, R y otros.**, Los Flavonoides en la Terapia Cardiovascular. *Rev. costarric. cardiol* vol.8 n.1 San José Jan-Cuba., 2006., pp.5-8
34. **SARAVIA, A.**, Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos experimentales in vivo e in vitro., San Marcos-Guatemala., Universitaria., 2005., pp.504-505.
35. **SHARAPIN, N.**, Fundamentos de tecnología de productos Fito terapéuticos. Santafé de Bogotá-Colombia., Roberto Pinzon S., 2000., pp.152, 161,163.

### **36. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO**

[http://www.seh-lelha.org/pdf/guia05\\_8.pdf](http://www.seh-lelha.org/pdf/guia05_8.pdf)

2015-05-27

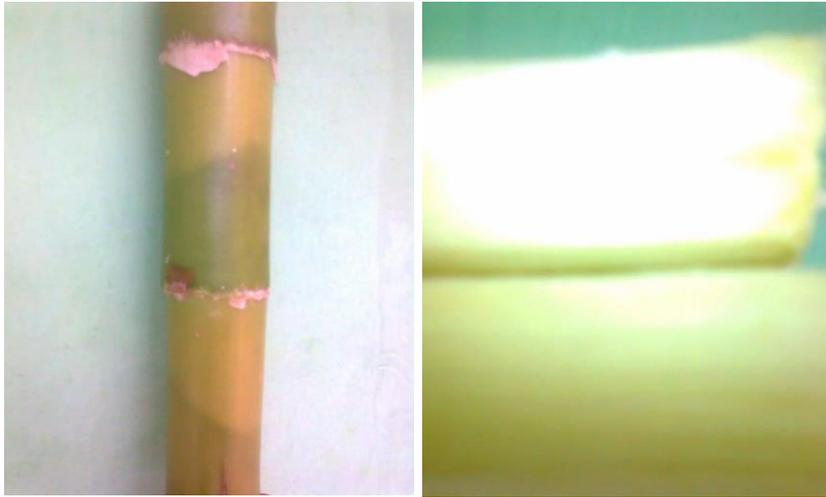
### **37. UTILIDAD DE LA CAÑA AGRIA**

[www.tlahui.com/medic/medic31/cana\\_de\\_jabali.htm](http://www.tlahui.com/medic/medic31/cana_de_jabali.htm)

2014-10-10

## ANEXOS

### Anexo A: Materia prima



**Fotografía2 :** Materia prima tallo de caña agria (*Costus spicatus*)”

### Anexo B: Cuantificación



**Fotografía3:** Reactivos y materiales utilizados en la cuantificación de flavonoides totales



**Fotografía 4:** Espectrofotómetro utilizado para la cuantificación

#### **Anexo C: Cromatografía**



**Fotografía 5:** Análisis cromatográfico de flavonoides

**Anexo D:** Extractos



**Fotografía 6 :** Obtención del extracto para la evaluación de la actividad

**Anexo E:** Evaluación farmacológica



**Fotografía 7:** Evaluación del efecto diurético de jugo de caña agria (*Costus spicatus*)

**Anexo F:** Administración



**Fotografía 8:** Administración oral de los tratamientos de caña agria (*Costusspicatus*)



**Fotografía 9:** Administración intraperitoneal de furosemida

**Anexo G:** Determinación de electrolitos



**Fotografía 10.** AVL 6380 equipo para determinación de electrolitos