

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LOS EXTRACTOS HEXANICO,
CLOROFORMICO, CLOROFORMO-METANOLICO, METANOLICO Y ACUOSO DE
Bixa Orellana L. (Achiote) COMO DIURETICOS (ESTUDIO
FARMACOLOGICO DE FASE II).

INFORME DE TESIS

Presentado por:

JESSICA LURBIN DAVILA DAVILA

Para optar al título de:

Químico Farmacéutico

Guatemala, agosto de 1997.

SECRETARÍA DE LA FACULTAD
31511

SECRETARÍA

06

T(1703)

0.4

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
SECRETARIO	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
VOCAL II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
VOCAL III	Lic. Rodrigo Herrera San José
VOCAL IV	Br. Ana María Rodas Cardona
VOCAL V	Br. Hayro Oswaldo García García

DEDICATORIA

A Dios

Por iluminarme y guiarme con su sabiduría en todo momento.

A mis Padres

Por su amor, apoyo y sabios consejos los cuales me formaron con rectitud.

A mis Hermanos

Mauricio y Ludwin con todo mi cariño.

A mi Abuelo

Isauro Dávila P., por sus sabios consejos.

A una persona muy especial

Juan José Romero Pezzarossi, por su amor, comprensión y apoyo incondicional.

Con respeto a

Blanca I. Pezzarossi (Q.E.P.D) y Mario Romero por su apoyo durante la realización de este trabajo.

A Vivian Sánchez

Por su amistad brindada y su ayuda en la elaboración del presente trabajo.

A mis amigos

Vivian, Kareen, Susana, Ivonne, Absalom, Hugo, Douglas y Alejandra.

AGRADECIMIENTOS

Al Licenciado Mynor Rolando Hernández Espina por su asesoría, su amistad y apoyo brindado para la realización del presente trabajo.

A la Licenciada Marta Inés Reyes Mayén por su amistad y su asesoría incondicional en el presente trabajo de investigación.

A las Licenciadas Raquel Pérez Obregón y Ana María Muñoz por su colaboración en el momento que lo necesitaba.

A la Dirección General de Investigación, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas y Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por el apoyo financiero proporcionado para la realización del presente trabajo de investigación.

INDICE

	Pag.
1. Resumen	1.
2. Introducción	3.
3. Antecedentes	4.
3.1 Descripción botánica	4.
3.2 Origen y distribución	4.
3.3 Composición fitoquímica	5.
3.4 Usos populares	6.
3.5 Estudios farmacológicos	8.
4. Justificación	12.
5. Objetivos	13.
6. Hipótesis	14.
7. Materiales y Métodos	15.
8. Resultados	23.
9. Discusión de Resultados	46.
10. Conclusiones	52.
11. Recomendaciones	53.
12. Referencias Bibliográficas	54.
13. Anexos	61.

1. RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con el propósito de evaluar la actividad diurética de los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo-metanólico 9:1, metanólico y acuoso de las hojas de Bixa orellana L. (Achiote), como un estudio farmacológico de Fase II.

Los extractos se trabajaron según la metodología propuesta por Ciulei. La actividad diurética de dichos extractos se evaluó por medio de la administración oral de los diferentes extractos a ratas albinas, a diferentes dosis, 100 mg/kg, 115 mg/kg, 132 mg/kg, 152 mg/kg, 175 mg/kg y 201 mg/kg de peso (estimada arbitrariamente y en progresión geométrica. Utilizando el método de Naik y col., modificado por Saravia. (1). El tamizaje fitoquímico se realizó utilizando ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por Ciulei. También se llevó a cabo ensayos de toxicidad aguda (DL50), al extracto que presentó el mayor efecto diurético significativo, para garantizar que el extracto no es tóxico a las dosis investigadas.

Los resultados obtenidos, demostraron que el extracto Metanólico de las hojas de Bixa orellana L. (Achiote) posee actividad diurética significativa sólo a la máxima dosis ensayada (201 mg/kg de peso), mientras que los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo:metanólico 9:1 y acuoso no tienen actividad diurética significativa a ninguna de las dosis ensayadas. El extracto metanólico no mostró toxicidad

2.

aguda a dosis iguales o menores de 320 mg/kg de peso (DL 50 > 320 mg/kg de peso). En lo que respecta a los resultados del tamizaje fitoquímico, dicho extracto proporcionó una evidencia preliminar de la presencia de alcaloides y/o aminas terciarias o cuaternarias u óxidos de amina; así como compuestos del tipo fenilpropano (cumarinas y/o flavonoides) con al menos dos dobles enlaces conjugados, y/o ácidos orgánicos.

2. INTRODUCCION

Guatemala es un país rico en vegetación, que presenta una gran diversidad de plantas útiles en nuestro medio, dentro de las cuales encontramos las plantas medicinales, que hoy en día cobran gran auge para su aprovechamiento terapéutico en distintas enfermedades; sin embargo, estas carecen, en la mayoría de los casos, de un respaldo científico que valide su utilización.

Con este estudio, se pretende confirmar los resultados del estudio específico de plantas con actividad diurética preliminar demostrada en fase I; contribuyendo así a una utilización confiable de las plantas en terapéutica.

Son varias las propiedades medicinales que se le atribuyen al Achiote, encontrándose entre ellas su actividad diurética, la cual se evaluó con los extractos de las hojas, mediante el Método de Naik y col., modificado por Saravia.(1)

Paralelamente se evaluó la Dosis Letal Media (DL 50) del extracto crudo que presentó el mayor efecto diurético significativo, de Bixa orellana L., para lo cual se utilizaron ratones albinos, con un peso aproximado de 20 g., procedentes de una misma camada.

Finalmente se realizó un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro. (2)

3. ANTECEDENTES

Desde la década de los años ochenta se han realizado estudios científicos sobre la acción diurética de plantas medicinales de uso popular en Guatemala, anotándose 40 especies de plantas a las que se les atribuye acción diurética. Encontrándose dentro de estas plantas las hojas de Bixa orellana L., en la que se ha demostrado dicha actividad. (3)

3.1 Bixa orellana L. (Achiote):

3.1.1 Descripción Botánica:

Es un arbusto o arbolito cuyo tallo aéreo, herbáceo se divide en ramas que le dan un aspecto coposo y mide de 3-9 metros de alto. Hojas siempre verdes, enteras, acorazonadas y ovadas, pecioladas, de nervadura palmeada, acuminadas de 8-20 cm. de largo y 4-15 cm. de ancho, flores hermafroditas con 5 pétalos de color blanco o rosado, estamen conspicuo, cáliz peludo, estambres numerosos de color morado, dispuestas en corimbos. El fruto es una cápsula de 3-4 cm., usualmente con espinas blandas, ovoide o cónicas; con semillas, café-rojizo o amarillo, generalmente con aspecto liso, las semillas numerosas en celdas separadas, de 5 mm. de largo, cubiertas de una fina pulpa rojo-naranja. (4)

3.1.2 Origen y Distribución:

Nativa del continente americano, se ha descrito desde México hasta Bolivia en alturas de hasta 1,000 m. En Guatemala se cultiva por su producción de colorante en:

Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, El Progreso, Jutiapa, Zacapa, Chiquimula, Santa Rosa, Escuintla, Sacatepéquez, Quetzaltenango y Chimaltenango. Se ha encontrado algunas variedades en Guatemala y otras partes de Centro América, tales como: B. orellana var. urucurana y B. orellana var. leiocarpa. La variedad urucurana es la que está más ampliamente distribuida en el territorio de Guatemala. (4-13).

3.1.3 Composición Fitoquímica: El extracto acuoso de la pulpa roja de la semilla contiene el equivalente a 1,000-2,000 UI de vitamina A por g., proteínas, B-caroteno y otros carotenoides, entre los cuales los más abundantes son la bixina y la norbixina.(14,15) También se encuentra la orellina.(5). El tamizaje fitoquímico indica la presencia de aceite volátil, aminos, flavonoides, leucoantocianinas, triterpenos, taninos, aceites grasos y alcaloides. El análisis proximal de 100 g. de la semilla seca contienen 13.1 g. de proteína, 5.0 g. de grasa, 5.4 g. de ceniza; 100 g. de la planta fresca contienen 54 calorías, 84.4 g. de agua, 0.3 g. de grasa, 14.3 g. de carbohidratos totales, 0.5 g. de fibra, 1.0 g. de ceniza, 7 mg. de calcio, 10 mg. de fósforo, 0.8 mg. de hierro, 90 mg. de caroteno, 0.05 mg. de riboflavina, 0.3 mg. de niacina y 2 mg. de ácido ascórbico.(4,16).

En las hojas se ha informado de la presencia de algunos alcaloides supuestamente tóxicos no caracterizados, flavonoides y el hidrocarburo sesquiterpeno tetracíclico

ishwarano.(7). De las raíces se ha aislado ácido tomentósico. (17).

El análisis químico cualitativo del extracto n-hexano de la raíz revela esteroides insaturados, alcaloides no cuaternarios, cardenólidos y bufadienólidos. El extracto metanólico de tallos, hojas y semillas revela esteroides insaturados, cardenólidos, taninos y polifenoles. (18).

3.1.4 Usos populares:

La maceración y decocción de semillas con azúcar se toma para eliminar la astenia, debilidad, diabetes, gripe, enfermedades venéreas, diarrea, ictericia, hemorroides, oliguria.(7,14-15,17,19).

Las semillas hervidas con leche alivian las torceduras y traumatismo. (13-14).

El aceite derivado de la semilla es utilizado en Centro América en el tratamiento de lepra. Por vía tópica, la pulpa roja se mezcla con aceite y se aplica en pequeñas heridas y erupciones de la piel para ayudar a cicatrizar y la semilla machacada frita en asociación con el aceite de coco se aplica para quemaduras.(7,15,20).

A las semillas se les atribuye propiedades afrodisíacas, antidiarreicas, antigonorreicas, cicatrizante, desinflamante, diurética, febrífuga, hepatotropa y purgante.(14,21-23)

El polvo de las semillas se puede mezclar con agua para gárgaras en caso de amigdalitis. (15)

En Yucatán se dice que las semillas son antídoto del

piñoncillo (Jatropha curcas L.), y de la yuca (Manihot). (20)

La extracción fría de las semillas se usa para inflamaciones, para problemas del hígado, sarampión, la diarrea y disentería. El polvo de la semilla, en té de sauco se usa para asma, pleuresia y dificultades respiratorias. Se muele la semilla y se coloca sobre el ombligo cuando éste está infectado. (22,24,25)

La tinta de achiote se usa como antídoto del ácido prúsico, veneno de mandioca. (26-28)

En Honduras, se utilizaban las semillas como colorante de ropa. Los indígenas usan la pulpa para pintar su cabello y cuerpo en los ritos, como repelente de insectos y protector de quemaduras de sol. Se usa culinariamente para colorear las comidas y recados y comercialmente para colorear bebidas suaves, quesos, mantequilla, jugos cítricos, algodón, seda, cera, aceites. (4,6,11,15,19,28-31).

La decocción de la raíz se usa para aliviar ictericia, oliguria, diabetes, enfermedades venéreas y gripe. (14,17,19)

En Guatemala, se usa el polvo de achiote, en té de la raíz del achiote para problemas de menstruación. También se le atribuyen propiedades abortivas. (4,22)

En la zona Kekchí, (Cobán) se cuece la raíz de achiote y se bebe diariamente una taza con fines antidiabéticos. (13)

Las hojas molidas liberan una pequeña cantidad de goma que se toma como diurético, purgante y para tratar la gonorrea. La decocción de las hojas se usa para enfermedades

del hígado y desinflamación de la garganta. (7,20,22)

A las hojas se les atribuye actividad antiinflamatoria, diurética, emenagoga, emética y hepatotropa. (4,14,32,33)

En Honduras, el cocimiento de las hojas se usa contra la disentería y la diarrea. La decocción de las hojas se aplica para aliviar la fiebre. En casos de sarampión, se cocinan las hojas jóvenes, se cuele y se toma una taza por 1-2 días. La aplicación local de las hojas machacadas es recomendada para curar los paños (infecciones micóticas) y alergias de la cara. (15,22). En Guatemala, también se aplica la hoja sobre la cara para dolor de cabeza. (22)

Las hojas tienen propiedades expectorantes, diuréticas, antiinflamatorias, antipiréticas, astringentes, catárticas y purgantes. Recomendadas para afecciones del corazón: carditis, endocarditis, pericarditis. En Surinam, la decocción de tres hojas en un litro de agua es bebida para detener el vómito y la náusea.(18-19,24,26)

El fruto es utilizado en eritemas, hemorroides, lepra, sarampión y viruela.(24)

En Perú, el fruto es considerado como antidisentérico, antipirético, afrodisíaco, astringente y diurético.(15)

3.1.5 Estudios farmacológicos realizados:

Terashima, et al., en 1991 demostró que el extracto en acetona-éter de Bixa orellana L. presentó actividad inhibidora de aldolasa (IC 50=3.0 ug/ml), mientras que el extracto acuoso IC 50 = 10 ug/ml. (15)

Tseng, et al., en 1992 realizó un estudio en el que el extracto acuoso de la raíz, en ratas con dosis de 400 mg/kg demostró actividad antisecretora gástrica. El extracto hidroalcohólico inhibe la prostaglandina sintetasa en concentraciones de 750 ug/ml. (14,15)

Además, se han reportado actividades hipotensivas y relajantes de músculos lisos en extractos acuosos. El extracto clorofórmico por intubación gástrica en dosis de 1 g en perro demostró actividad hipoglicémica significativa (P.001) (Morrison y West, 1985; Thompson, et al., 1989). (4,15,32)

El extracto acuoso de la semilla por vía intraperitoneal en rata provocó una disminución de la actividad motora y un aumento de la diuresis, sin señales de toxicidad. La decocción de las hojas induce la contracción del útero aislado de la rata. Los extractos etanólicos de fruto y hoja muestran una actividad antibacteriana in vitro sobre Staphylococcus aureus, Escherichia coli (George & Pandalai, 1949) y Salmonella typhi (Cáceres, 1989). (15,32)

En 1981, se hizo un estudio en el cual se mostró que el extracto acuoso de la raíz de Achiote es hipoglucemiante y su dosis más efectiva es 50 mg/kg, sin observar efectos tóxicos apreciables en animales de experimentación. (13)

Estudios realizados en Guatemala demuestran que la maceración etanólica de la raíz posee actividad contra S. typhi, no así contra E. coli, S. enteritidis, S. dysenteriae,

y *S. flexneri*. (4)

En 1990 se realizó un estudio en el que la infusión de la hoja presentó acción inhibitoria *in vitro* contra *Trichomonas vaginalis*. (34)

En el año de 1983 se realizó un estudio en el que el extracto acuoso de la raíz con n-hexano tiene actividad hipoglucemiante al administrarse glucagon; pero si las células productoras de insulina se destruyen con haloxano los niveles de glicemia aumentan y al administrar el extracto, la hiperglicemia no disminuye. (35)

En 1993 se realizó un estudio en el que las maceraciones hidroalcohólicas de las hojas de Achiote, tienen efecto antimicrobiano *in vitro* contra *Gardnerella vaginalis*. (18)

En el año de 1996 se determinó que *Bixa orellana* L. inhibe la actividad microbiana de *S.typhi*, *S. flexneri* y *E.coli*. (24)

En el año de 1994 se determinó que las infusiones acuosas de las hojas de *Bixa orellana* L. poseen actividad diurética *in vivo*.; y no poseen efectos tóxicos agudos en animales de experimentación. (3)

En 1990 se estableció, mediante la cuantificación de *T. vaginalis*, que el extracto acuoso de *Bixa orellana* L. presenta actividad tricomocida *in vitro*. (36)

En un estudio realizado del fraccionamiento de las semillas se obtuvo la bixina, con la que se evaluó la actividad antiinflamatoria en ratas, Sprague Dawley (50-70 g)

mostrando un efecto moderado del 30% de actividad. (37)

Estudios de la actividad antiinflamatoria informan que el extracto acuoso presentó un 4% de inhibición de la inflamación por el Método de Winter et al. (38)

El alto contenido de Vitamina A, podría explicar su acción sobre afecciones de la piel y quemaduras. (39)

4. JUSTIFICACION

Desde tiempos anteriores, el hombre se ha visto en la necesidad de buscar recursos terapéuticos, especialmente buscando que estos satisfagan sus necesidades de salud; ya que el alto costo de los medicamentos y la situación económica de la población guatemalteca hace que la posibilidad de adquirir dichos medicamentos cada día se reduzca más, por lo que se hace indispensable avanzar progresivamente hacia un mejor conocimiento de los recursos naturales de nuestro país, haciendo énfasis en las plantas medicinales, realizando una validación científica de las propiedades atribuidas popularmente a las mismas, para que la población guatemalteca las utilice en forma segura, racional y que sean accesibles económicamente.

Como consecuencia de lo anterior, es de suma importancia el confirmar en Fase II, los resultados del estudio específico de Bixa orellana L. (Achiote) con actividad diurética preliminar demostrada en fase I; contribuyendo de esta manera a proporcionar un soporte científico que respalde dicha actividad farmacológica.

SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA
INSTITUTO GUATEMALTECO DE CONTROL Y CALIDAD FARMACÉUTICA

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVOS GENERALES:

- 5.1.1. Contribuir al estudio farmacológico y fitoquímico sobre plantas popularmente usadas en Guatemala.
- 5.1.2. Proporcionar información que sirva como base para investigaciones futuras, sobre plantas medicinales con actividad diurética demostrable.

5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 5.2.1. Evaluar la actividad diurética de los extractos de hojas de Bixa orellana L. (Achiote).
- 5.2.2. Identificar por medio de pruebas químicas, él o los grupos fitoquímicos presentes en el extracto de Bixa orellana L. (Achiote), que posea la mayor actividad diurética demostrable.
- 5.2.3. Determinar la Dosis Letal 50 (DL 50) de él o los extractos crudos de Bixa orellana L. (Achiote), responsable de la actividad diurética.

6. HIPOTESIS

- 6.1. Al menos uno de los extractos obtenidos a partir de las hojas de Bixa orellana L. (Achiote) posee actividad diurética significativa demostrable en un modelo animal.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO TRABAJO:

Extractos obtenidos de especímenes vegetales de hojas de Achiote (Bixa orellana L.).

7.2 MEDIOS:

7.2.1 Recursos Humanos:

7.2.1.1 Autora del trabajo: Jéssica Lurbin Dávila Dávila.

7.2.1.2 Asesora: Licda. Marta Inés Reyes Mayén.

7.2.1.3 Asesor: Lic. Mynor Rolando Hernández Espina.

7.2.2 Recursos Materiales:

7.2.2.1 Planta: hojas de Achiote (Bixa orellana L.).

7.2.2.2 Ratas y ratones albinos, adultos de un mismo sexo.

7.2.2.3 Fármaco de referencia: Furosemida. (25 mg/kg de peso).

7.2.2.4 Solventes: n-hexano, cloroformo, metanol y agua.

7.2.2.5 Rotavapor, marca Yamato.

7.2.2.6 Jaulas metabólicas, tipo Fischer.

7.2.2.7 Material y equipo de laboratorio (cristalería, balanza analítica, estufa, etc.).

7.3 PROCEDIMIENTO:

7.3.1 Revisión bibliográfica.

7.3.2 Recolección de las hojas de Bixa orellana L.

(Achiote), en varias poblaciones silvestres del Departamento de Santa Rosa, durante el mes de Agosto.

7.3.3 Secado y molienda de las hojas de Bixa orellana L.

7.3.4 Herborización e identificación de la planta.

7.3.5 Preparación de los extractos:

7.3.5.1 EXTRACTO HEXANICO:

Se macera 700 g. del material vegetal, seco y molido, en un frasco hermético de aproximadamente un galón de capacidad, de color ámbar. Posteriormente se adicionan 1000 ml o más de n-hexano. Se cierra el frasco y se agita periódicamente por 48 horas o más. Se filtra la mezcla. Luego se evapora al vacío en un rotavapor el extracto filtrado, para evitar temperaturas mayores de 60 °C hasta obtener un residuo seco. Se pesa la cantidad de residuo seco. Se repite el procedimiento de maceración anterior, con el mismo material vegetal, cuantas veces sea necesario a manera de extraer en frío, los compuestos químicos que posee el Achiote.

Se evapora cada extracto filtrado hasta que la cantidad de residuo seco obtenido, no tenga una variación mayor del 1% en peso de extracto.

7.3.5.2 EXTRACTO CLOROFORMICO:

Se macera el material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto hexánico, con 1000 ml o más de cloroformo. Se sigue el procedimiento del extracto anterior.

7.3.5.3 EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO:

Se macera el material vegetal utilizado en el extracto clorofórmico, con 1000 ml o más de cloroformo:metanol (9:1). Se sigue el procedimiento del extracto anterior.

7.3.5.4 EXTRACTO METANOLICO:

Se macera el material vegetal utilizado en el extracto cloroformo:metanólico, con 1000 ml o más de metanol. Se sigue el procedimiento del extracto anterior.

7.3.5.5 EXTRACTO ACUOSO:

Se macera el material vegetal utilizado en el extracto metanólico, con 1000 ml o más de agua. Se sigue el procedimiento del extracto anterior.

7.3.6 Formulación de los extractos:

Cantidades conocidas de los extractos se formulan con TWEEN 80, para el caso de los extractos insolubles en agua; y con agua para el caso contrario, a manera de administrar aproximadamente 0.5-1 ml. de suspensión o solución por vía oral a cada rata.

7.3.7 Ensayo de la Actividad Diurética:

Para la demostración de la actividad diurética se usa el método de Naik y col, modificado por Saravia. (1)

Se utiliza 12 ratas albinas, del mismo sexo, divididas en grupos de 3 ratas cada uno, y en ayuno de 24 hrs. con un rango de peso entre 200-300 gramos, durante un período de experimentación de 5 días.

Se realizan 4 tratamientos por ensayo, de manera que dos de éstos son fármaco de referencia y control, y los otros dos son, 2 extractos a la misma dosis ó un mismo extracto a diferente dosis, según conveniencia.

Al grupo de ratas control se les administra una solución

acuosa de TWEEN.

Al grupo del fármaco de referencia se les administra furosemida a una dosis de 25 mg/kg de peso, y a los grupos experimentales se les administra las formulaciones de los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo:metanólico (9:1), metanólico y acuoso, en dosis calculadas mediante una progresión geométrica (preferiblemente entre 100-200 mg/kg de peso).

La administración de los diferentes extractos se hace por vía oral con una sonda orogástrica. Posteriormente se coloca las ratas en jaulas metabólicas individuales para su observación. El volumen de orina se mide cada día, primero en condiciones normales, después a las 2, 4 y 6 hrs. de administrados los diferentes extractos de la planta, la sustancia de referencia y un vehículo acuoso que se usa como control.

7.3.8 Ensayo Toxicológico: Método de Spearman y Karber: (40)

Se determina la Dosis Letal Media (DL 50) al extracto que presenta el mayor efecto diurético significativo. El ensayo preliminar se trabaja con 6 grupos de 5 ratones albinos, del mismo sexo, con un peso aproximado de 20 gramos, procedentes de una misma camada e igual alimentación. La sustancia a ensayar se administra por vía oral y la dosis se aumenta en progresión geométrica.

En el ensayo definitivo, se evalúa dosis diferentes, siendo éstas 10, 20, 40, 80, 160 y 320 mg/kg de peso, observándose

el comportamiento de los ratones, peso y el número de animales muertos. La muerte puede manifestarse a las 1, 2, 4, 6, 24, 48 hrs. y un máximo de 8 días o bien morir instantáneamente o pocos minutos después de administrar la dosis. Los signos precursores de muerte pueden ser temblores, sialorrea, sudores, espasmos respiratorios, convulsiones, etc. Para obtener los resultados de la toxicidad del extracto DL 50, se utiliza el programa FINNEY para BASIC.

7.3.9 Caracterización Fitoquímica:

Se realiza un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por Ciulei para la investigación de metabolitos secundarios (1). Se utilizan también técnicas cromatográficas (CCF) convencionales para la caracterización fitoquímica preliminar, ésto se lleva a cabo con el extracto que presenta mejor respuesta diurética.

7.3.9.1 Ensayos macro y semimicro:

7.3.9.1.1. Investigación de Alcaloides: 1 g de extracto

metanólico se trata con solución de hidróxido de amonio al 10% (2 gotas), y seguidamente se le añaden 25 ml de metanol a 65 C. Posteriormente la solución es filtrada y el filtrado es acidificado con HCl 2N. La solución resultante es entonces dividida en 4 tubos de ensayo, y son evaluados de la manera siguiente:

Tubo No. 1: No se le agrega reactivo alguno. Testigo.

Tubo No. 2: Se le agrega 5 gotas de reactivo de Dragendorff.

Tubo No. 3: Se le agrega 5 gotas de reactivo Mayer.

Tubo No. 4: Se le agrega 5 gotas de reactivo Wagner.

7.3.9.1.2 Investigación de Flavonoides: 5 g de extracto metanólico son hidrolizados con HCl 2N mediante reflujo y calentamiento por media hora. El extracto hidrolizado resultante es partido con dietiléter y la fase etérica reconcentrada. Una parte (4 ml) de la solución etérica es reconcentrada a sequedad, redisuelta en etanol al 80% y dividida en 4 tubos de ensayo. Los tubos son tratados y evaluados de la manera siguiente:

Tubo No. 1: No se le agrega reactivo alguno. Testigo.

Tubo No. 2: Se le agrega Mg metálico y 3 gotas de HCl concentrado.

Tubo No. 3: Se le añade 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Tubo No. 4: Se le agrega 3 gotas de cloruro férrico al 10%.

Se evalúan reacciones y cambios de coloración comparados con el testigo.

7.3.9.2 Cromatografía en Capa Fina: Se corren cromatografías del extracto metanólico, utilizando cromatofolios de silicagel 60 F254.

7.3.9.2.1 Fase Móvil:

- a. Cloroformo:metanol:agua (80:18:2).
- b. Butanol:ácido acético:agua (65:15:25).

7.3.9.2.2 Visualización de Manchas:**7.3.9.2.2.1 Reactivos cromógenos:**

- a. Anisaldehído.
- b. Dragendorff.
- c. Cloruro Férrico.
- d. Sulfato de Cerio.

7.3.9.2.2.2 Medios físicos:

- a. Luz visible.
- b. Luz UV a 254 y 365 nm.

7.3.9.2.3 Estándares:

- a. Acido gálico.
- b. Colesterol.
- c. Quercetina.
- d. Papaverina.
- e. Para-cymol.
- f. Terpinoleno.
- g. Alfa-terpineno.

7.3.10 Diseño Experimental:

El diseño que se utiliza es el de bloques completos al azar con cinco bloques y tres réplicas por bloque (alfa = 0.05 y beta = 0.20).

6.3.10.1 La variable de respuesta medida es el área bajo la curva de diuresis versus tiempo, para cada una de

las ratas, calculada por cada día de experimentación.

6.3.10.2 Se hace un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías, para evaluar las siguientes hipótesis de prueba:

Ho: todos los tratamientos tienen la misma actividad diurética.

Ha: al menos uno de los tratamientos tiene una actividad diurética diferente.

Al rechazarse Ho se hace la prueba de Dunnett para comparar el fármaco de referencia y los extractos de la planta frente al control.

8. RESULTADOS

8.1 Rendimiento extractivo:

El rendimiento extractivo obtenido de las hojas secas de Bixa orellana L. (Achiote fue enumerado de mayor a menor porcentaje): Metanólico, Hexánico, cloroformo; metanólico 9:1, clorofórmico y acuoso (Tabla No.1).

TABLA No. 1

Material Vegetal inicial (gramos)	Extracto	Extracto obtenido (gramos)	Rendimiento (% p/p)
700	Hexánico	42.1	6.01
	Clorofórmico	17.1	2.44
	CHCl ₃ :MeOH *	18.8	2.69
	Metanólico	47.6	6.80
	Acuoso	14.03	2.00

* Cloroformo:Metanólico 9:1.

El extracto activo, Metanólico, obtuvo un rendimiento extractivo de 6.80 %. Del cual se parte para obtener la cantidad de hoja seca de Bixa orellana L., necesaria para cada dosis ensayada en la actividad diurética, expresada en gramos de planta seca por kilogramo de peso (g planta seca/kg de peso), (Tabla No.2).

TABLA No.2

GRAMOS DE PLANTA SECA (HOJA DE Bixa orellana L.) POR DOSIS

Dosis mg/kg de peso	Gramos de hoja seca <u>Bixa orellana</u> L. g de planta seca/kg de peso
201	2.96
175	2.57
152	2.24
132	1.94
115	1.69
100	1.47

8.2 Farmacología Experimental:

8.2.1 Ensayo Toxicológico:

Se evaluó la Dosis Letal Media (DL 50) del extracto metanólico que presentó actividad diurética significativa, en ratones albinos de 25 a 30 g de peso. No se observaron cambios en el comportamiento de los animales de experimentación a dosis de 10, 20, 40, 180, y 320 mg de extracto/Kg de peso. Tampoco se observó muerte alguna en ninguno de los lotes de los animales de experimentación. DL 50 es por lo tanto mayor que 320 mg/Kg de peso del extracto evaluado.

8.2.2 Ensayo diurético:

Ver tablas y gráficas.

TABLA No. 3

25.

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS
HEXANICO Y CLOROFORMICO DE HOJAS DE *Bixa orellana* L. A
DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de
Diuresis versus tiempo.

Diseño de Bloques completos Aleatorizados:
4 tratamientos, 5 bloques y 3 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	Control	Fármaco de referencia	Extracto Hexánico	Extracto Cloroformico	Procedio de Bloques (Días)
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Furosesida 25 mg/Kg	201 mg/Kg	201 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	4.00	15.00	3.00	5.00	7.21
	2	6.00	14.00	3.00	5.00	
	3	3.50	16.00	5.00	7.00	
Bloque 2 (Día 2)	1	8.00	12.00	7.00	9.00	9.29
	2	3.50	20.00	6.00	5.00	
	3	7.00	21.00	3.00	10.00	
Bloque 3 (Día 3)	1	8.00	11.00	8.00	3.00	7.75
	2	8.00	12.00	6.00	5.00	
	3	2.00	13.00	3.00	8.00	
Bloque 4 (Día 4)	1	7.00	16.00	6.00	6.00	8.79
	2	2.00	17.00	6.00	8.00	
	3	4.50	17.00	6.00	8.00	
Bloque 5 (Día 5)	1	8.00	18.00	7.00	5.00	7.42
	2	5.00	18.00	3.00	5.00	
	3	3.50	12.00	8.00	4.50	
Procedio de tratamientos		5.60	15.40	5.13	6.23	PROMEDIO TOTAL = 8.09
Desviación estándar de tratamientos		1.96	2.98	1.67	1.90	
Coefficiente de Variación de tratamientos		34.99	19.38	32.49	30.36	
Porcentaje de excreción		100.00	278.00	91.67	111.31	
Porcentaje de Potencia		35.36	100.00	33.33	40.48	

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS HEXANICO Y CLOROFORMICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_a : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F crítico	significancia
Tratamientos	3	903.3442	301.1147	37.1033	2.75	$p < 0.05$
Bloques	4	39.39187	9.847917	1.213489	2.89	N.S.
Error	52	422.01	8.118577			
TOTAL	59	1364.746				

Como el F calculado es $>$ que el F crítico, la H_0 se rechaza.

TABLA No. 5

PRUEBA DE DUNNETT

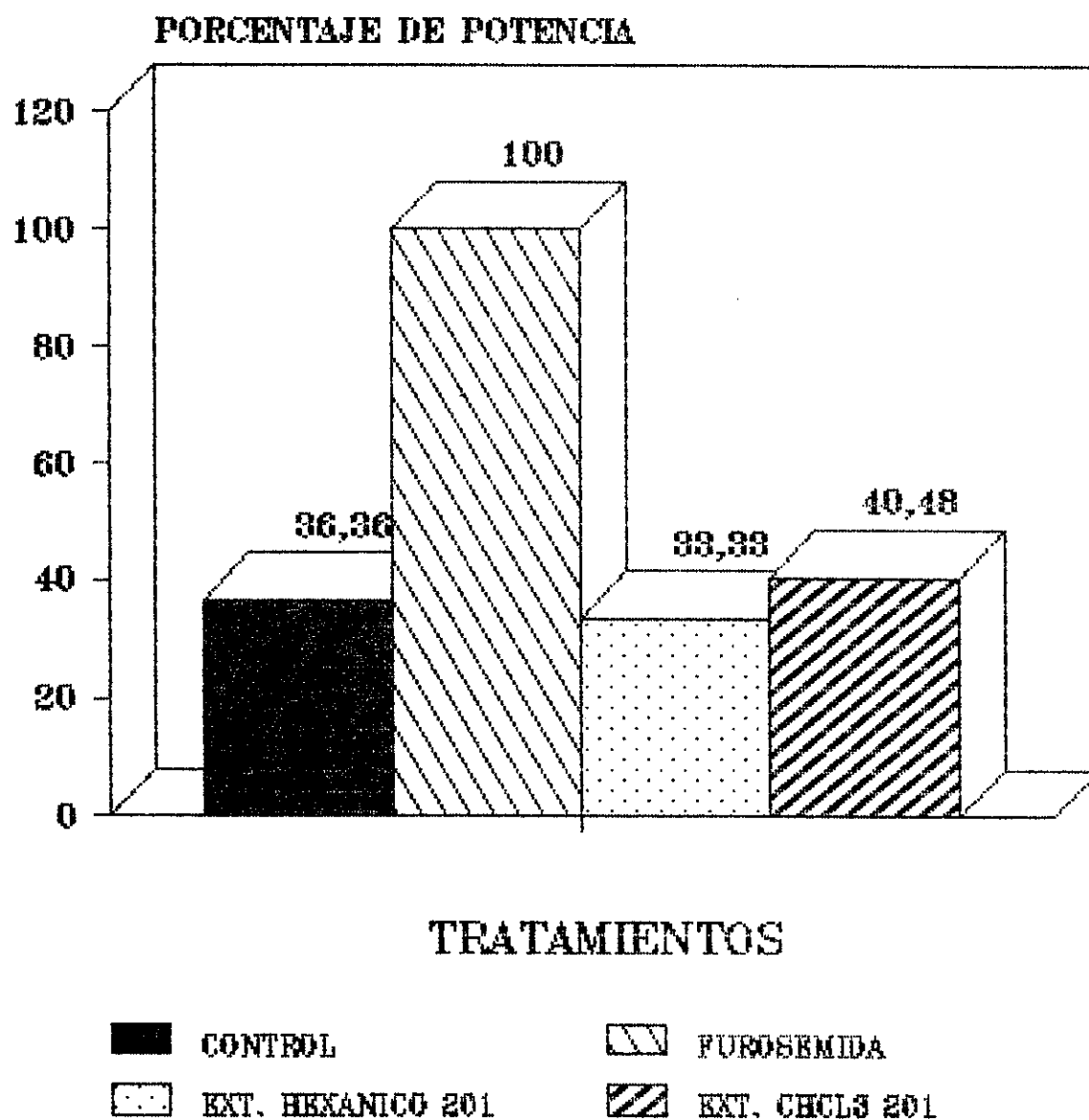
Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemda) y EXTRACTOS HEXANICO Y CLOROFORMICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

COMPARACIONES	$X_c - X_i$	Diferencia crítica DUNNETT	Nivel de significancia
Control contra Furosemda	9.8	2.569366	Significativo
Control contra el Extracto hexánico 201 mg/Kg de peso	0.468667	2.569366	N.S.
Control contra el Extracto cloroformico 201 mg/Kg de peso	0.432333	2.569366	N.S.

En el presente ensayo, sólo tiene actividad significativa la Furosemda. Los extractos hexánico y cloroformico son inactivos a dosis de 201 mg/Kg de peso.

GRAFICA No.1

EXTRACTOS HEXANICO Y CLOROFORMICO DE HOJAS DE B. orellana L. 201 mg/Kg peso



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 3

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS CLOROFORMO-METANOLICO (9:1) Y METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Diuresis versus tiempo.

Diseño de Bloques completos Aleatorizados:
4 tratamientos, 5 bloques y 3 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	Control	Fármaco de referencia	Extracto Cloroformo-Metanólico (9:1)	Extracto Metanólico	Promedio de Bloques (Días)
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Furoseida 25 mg/Kg	201 mg/Kg	201 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1 2 3	6.00 7.00 8.00	18.00 18.00 18.00	5.00 8.00 8.00	14.00 10.00 11.00	10.17
Bloque 2 (Día 2)	1 2 3	8.00 7.00 7.00	13.00 20.00 21.00	7.00 4.00 4.00	12.00 13.00 9.00	10.42
Bloque 3 (Día 3)	1 2 3	8.00 8.00 8.00	18.00 12.00 7.00	8.00 7.00 5.00	13.00 7.00 11.00	9.08
Bloque 4 (Día 4)	1 2 3	7.00 4.00 4.50	19.00 19.00 17.00	3.00 9.00 9.00	8.00 10.00 8.00	9.83
Bloque 5 (Día 5)	1 2 3	7.00 5.00 7.00	12.00 16.00 17.00	9.00 5.00 8.00	8.00 7.00 10.00	9.00
Promedio de tratamientos		6.77	15.87	6.27	9.73	PROMEDIO TOTAL = 9.66
Desviación estándar de tratamientos		1.28	3.34	1.95	2.62	
Coefficiente de Variación de tratamientos		18.86	22.30	31.09	26.91	
Porcentaje de excreción		100.00	234.48	92.61	143.84	
Porcentaje de Potencia		42.85	100.00	39.50	61.34	

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS CLOROFORMO-METANOLICO (9:1) Y METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

H₀: Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_a: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F crítico	significancia
Tratamientos	3	701.0275	233.6792	23.01277	2.76	p < 0.05
Bloques	4	19.18332	4.79583	0.472293	2.53	N.S.
Error	32	328.026	10.24433			
TOTAL	39	1248.246				

TABLA No. 8

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemida) y EXTRACTOS CLOROFORMO-METANOLICO (9:1) Y METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L.
 A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

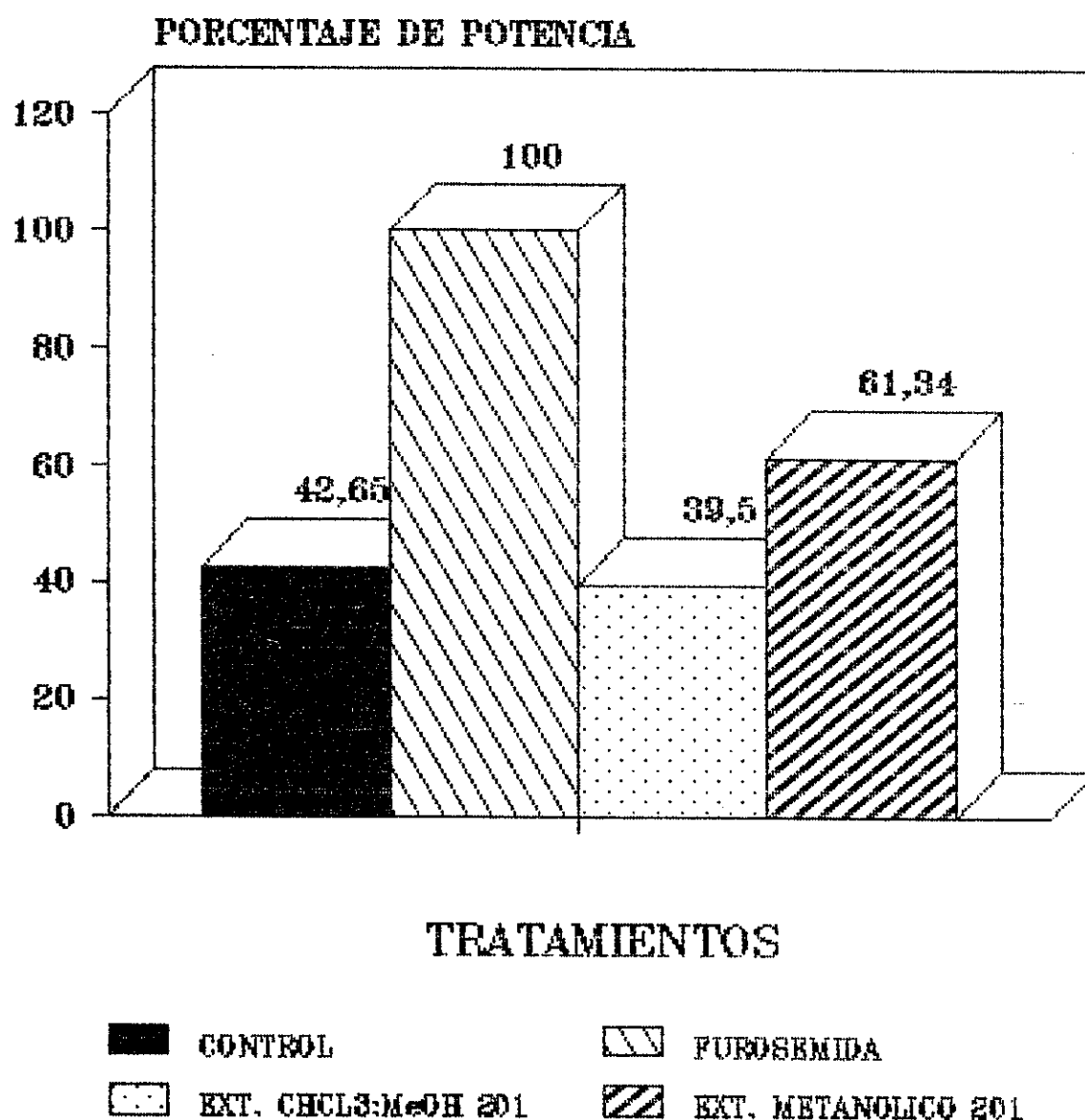
COMPARACIONES	X _c - X _i	Diferencia crítica DUNNETT	Nivel de significancia
Control contra Furosemida	3.1	2.874034	Significativo
Control contra el Extracto cloroformo-metanólico (9:1) 201 mg/Kg. de peso	0.8	2.874034	N.S.
Control contra el Extracto metanólico 201 mg/Kg de peso	2.988667	2.874034	Significativo

En el presente ensayo, sólo tienen actividad significativa la Furosemida y el extracto metanólico dosis de 201 mg/Kg de peso. El extracto cloroformo-metanólico (9:1) es inactivo a dosis de 201 mg/Kg de peso.



GRAFICA No.2

EXTRACTOS CHCL₃:MeOH (9:1) Y MeOH DE
HOJAS DE B. orellana L. 201 mg/Kg peso



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 6

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 175 y 201 mg/Kg de peso.

Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Diuresis versus tiempo.

Diseño de Bloques completos Aleatorizados:
4 tratamientos, 5 bloques y 3 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	Control	Fármaco de referencia	Extracto Acuoso	Extracto Acuoso	Promedio de Bloques (Días)
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Furosemida 25 mg/Kg	175 mg/Kg	201 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1 2 3	4.00 5.00 5.00	15.00 17.00 9.00	8.00 5.00 5.00	6.00 4.00 5.00	7.58
Bloque 2 (Día 2)	1 2 3	5.00 5.00 5.00	22.00 20.00 17.00	7.00 7.00 5.00	8.00 6.00 7.00	9.75
Bloque 3 (Día 3)	1 2 3	5.00 4.00 5.00	19.00 15.00 18.00	10.00 4.00 5.00	9.00 10.00 8.00	9.42
Bloque 4 (Día 4)	1 2 3	5.00 9.00 5.00	13.00 9.00 17.00	5.00 9.00 7.00	5.00 5.00 11.00	8.67
Bloque 5 (Día 5)	1 2 3	7.00 5.00 5.00	22.00 20.00 19.00	5.00 4.00 4.00	10.00 5.00 5.00	9.58
Promedio de tratamientos		5.07	16.80	6.13	7.00	PROMEDIO TOTAL = 9.00
Desviación estándar de tratamientos		1.53	3.90	1.78	2.31	
Coefficiente de Variación de tratamientos		25.15	23.23	29.08	32.99	
Porcentaje de excreción		100.00	276.92	101.10	115.38	
Porcentaje de Potencia		35.11	100.00	35.51	41.67	

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 175 Y 201 mg/Kg de peso.

H₀: Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_a: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F crítico	significancia
Tratamientos	3	1149.178	383.0592	21.54923	2.76	p < 0.05
Bloques	4	13.85	3.4625	0.285167	2.53	N.S.
Error	52	691.385	12.14202			
TOTAL	59	1794.513				

TABLA No. 11

PRUEBA DE DUNNETT

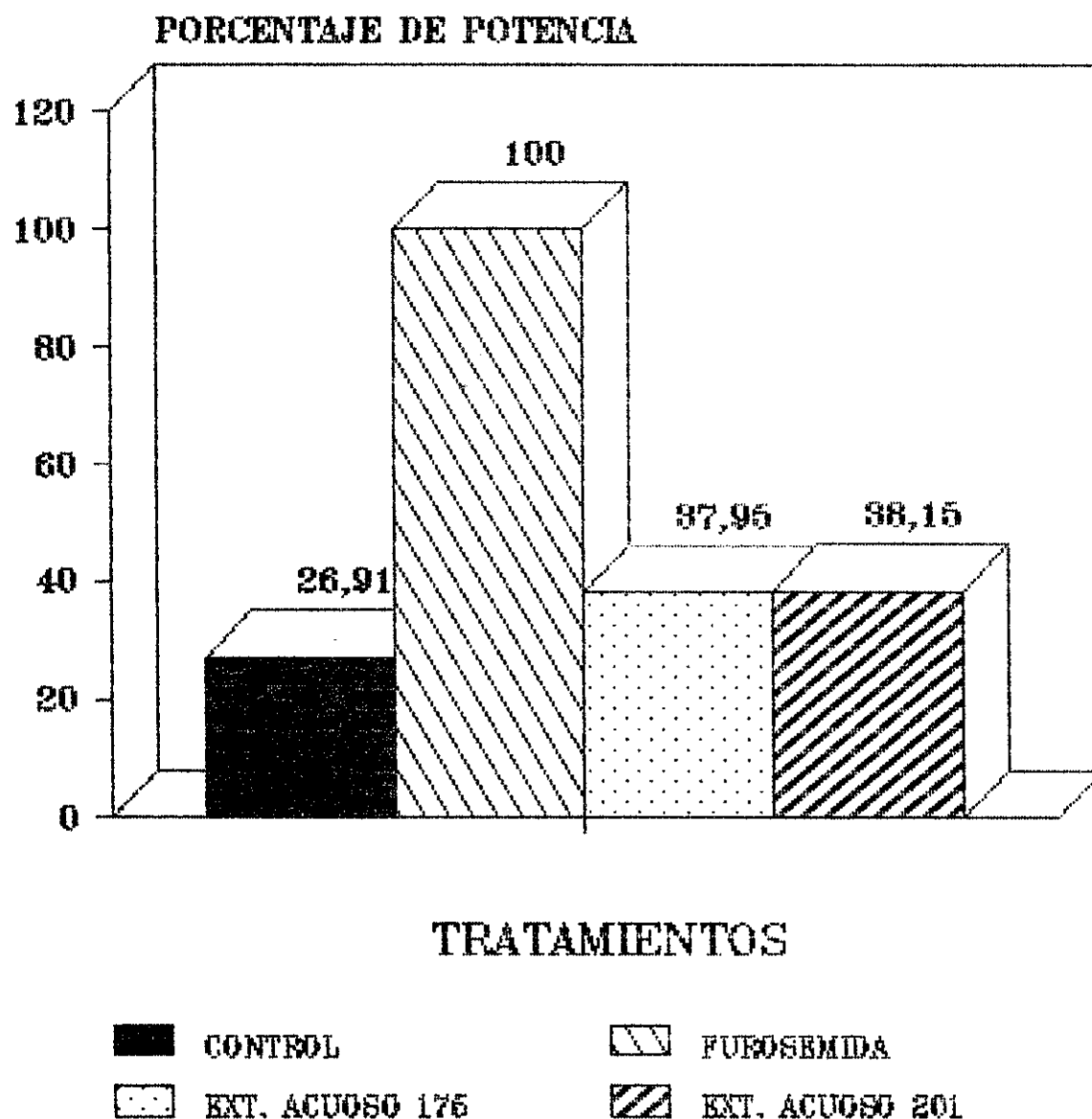
Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemda) y EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 175 Y 201 mg/Kg de peso.

COMPARACIONES	Xc - Xi	Diferencia crítica DUNNETT	Nivel de significancia
Control contra Furosemda	12.13333	3.142764	Significativo
Control contra el Extracto acuoso 175 mg/Kg de peso	1.833333	3.142764	N.S.
Control contra el Extracto acuoso 201 mg/Kg de peso	1.866667	3.142764	N.S.

En el presente ensayo, sólo tiene actividad significativa la Furosemda. El extracto acuoso a dosis de 175 y 201 mg/Kg de peso no tiene actividad diurética significativa.

GRAFICA No.3

EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *B. orellana* A DOSIS DE 175 Y 201 mg/Kg de peso.



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 9

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE *Bixa orellana* L. A DOSIS DE 175 y 201 mg/Kg de peso.

Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Diuresis versus tiempo.

Diseño de Bloques completos Aleatorizados:
4 tratamientos, 5 bloques y 3 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	Control	Fármaco de referencia	Extracto Metanólico	Extracto Metanólico	Promedio de Bloques (Días)
Día	Rata No.	Vehículo acuoso	Furosemida 25 mg/Kg	175 mg/Kg	201 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	5.00	13.00	3.00	11.00	9.17
	2	4.00	18.00	5.00	9.00	
	3	3.00	25.00	5.00	12.00	
Bloque 2 (Día 2)	1	8.00	21.00	8.00	7.00	10.33
	2	4.00	19.00	8.00	11.00	
	3	4.00	17.00	8.00	11.00	
Bloque 3 (Día 3)	1	3.00	21.00	6.00	10.00	10.08
	2	5.00	20.00	8.00	4.00	
	3	7.00	25.00	3.00	11.00	
Bloque 4 (Día 4)	1	4.00	20.00	3.00	13.00	10.42
	2	3.00	21.00	4.00	6.00	
	3	4.00	27.00	3.00	15.00	
Bloque 5 (Día 5)	1	6.00	18.00	7.00	14.00	10.42
	2	4.00	13.00	9.00	12.00	
	3	4.00	22.00	7.00	11.00	
Promedio de tratamientos		4.83	19.73	5.60	10.47	PROMEDIO TOTAL = 10.08
Desviación estándar de tratamientos		1.41	4.20	1.85	2.85	
Coficiente de Variación de tratamientos		31.08	21.30	33.12	27.22	
Porcentaje de excreción		100.00	435.29	123.53	230.88	
Porcentaje de Potencia		22.97	100.00	28.38	59.04	

TABLA No. 13

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 175 y 201 mg/Kg de peso.

H_0 : Las medias de todos los tratamientos son iguales.

H_a : Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F critica	significancia
Tratamientos	3	1731.83	577.2767	33.80937	2.76	$p < 0.05$
Bloques	4	13.5	3.375	0.198248	2.33	N.S.
Error	32	585.2333	17.0241			
TOTAL	39	2630.803				

TABLA No. 14

PRUEBA DE DUNNETT

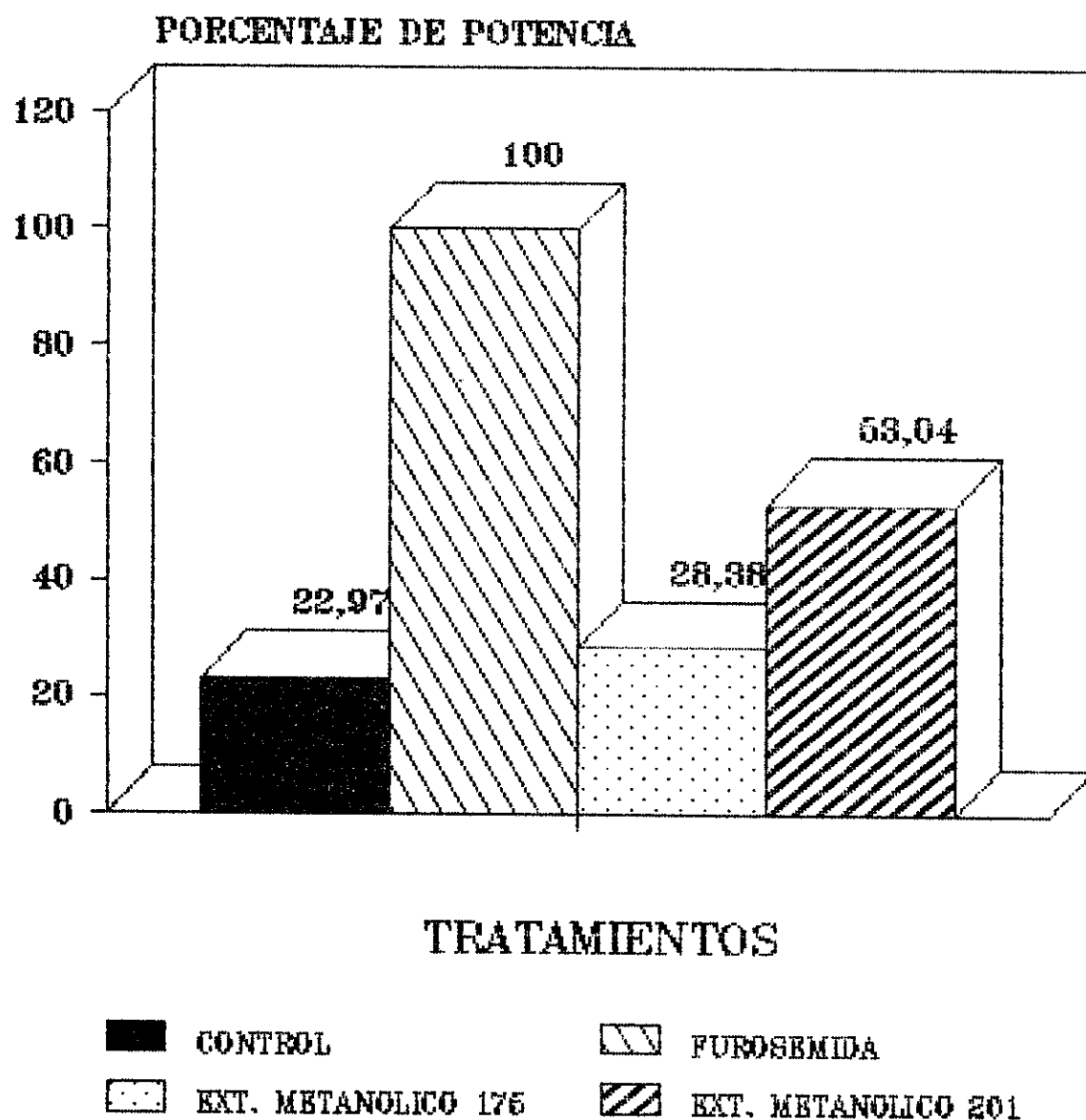
Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemda) y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 175 y 201 mg/Kg de peso.

COMPARACIONES	$\bar{x}_c - \bar{x}_i$	Diferencia crítica DUNNETT	Nivel de significancia
Control contra Furosemda	18.2	3.721332	Significativo
Control contra el Extracto metanólico 175 mg/Kg de peso	1.066667	3.721332	N.S.
Control contra el Extracto metanólico 201 mg/Kg de peso	8.933333	3.721332	Significativo

En el presente ensayo, sólo tienen actividad significativa la Furosemda y el extracto metanólico a dosis de 201 mg/Kg de peso. A dosis de 175 mg/Kg de peso el extracto metanólico es inactivo.

GRAFICA No.4

EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE H. orellana L. 175 y 201 mg/Kg peso



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 12

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE *Bixa orellana* L. A DOSIS DE 132 y 152 mg/Kg de peso.

Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Diuresis versus tiempo.

Diseño de Bloques completos Aleatorizados:
4 tratamientos, 5 bloques y 3 réplicas por bloque.

BLOQUES	REPLICAS	Control	Fármaco de referencia	Extracto Metanólico	Extracto Metanólico	Promedio de Bloques (Días)
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Furosesida 20 mg/Kg	132 mg/Kg	152 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	8.00	20.00	2.00	3.00	6.30
	2	8.00	17.00	3.00	6.00	
	3	8.00	20.00	2.00	8.00	
Bloque 2 (Día 2)	1	8.00	28.00	4.00	4.00	9.08
	2	7.00	17.00	8.00	3.00	
	3	7.00	17.00	3.00	5.00	
Bloque 3 (Día 3)	1	8.00	19.00	4.00	3.00	8.17
	2	8.00	19.00	4.00	4.00	
	3	9.00	20.00	2.00	4.00	
Bloque 4 (Día 4)	1	8.00	22.00	3.00	3.00	8.92
	2	8.00	21.00	5.00	5.00	
	3	5.00	27.00	3.00	3.00	
Bloque 5 (Día 5)	1	4.00	19.00	4.00	2.00	5.25
	2	2.00	11.00	2.00	3.00	
	3	3.00	12.00	4.00	3.00	
Promedio de tratamientos		8.73	18.87	3.40	3.93	PROMEDIO TOTAL = 7.98
Desviación estándar de tratamientos		1.95	4.63	1.14	1.18	
Coefficiente de Variación de tratamientos		22.98	24.55	33.62	30.03	
Porcentaje de excreción		100.00	329.07	89.30	88.60	
Porcentaje de Potencia		30.39	100.00	19.02	20.88	

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 132 Y 152 mg/Kg de peso.

H₀: Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_a: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F critico	significancia
Tratamientos	2	2127.857	709.2856	62.84421	2.76	p < 0.05
Bloques	4	118.2382	29.55955	2.618921	2.82	N.S.
Error	82	586.9922	11.28641			
TOTAL	88	2832.985				

Como el F calculado es > que el F critico, la H₀ se rechaza.

TABLA No. 17

PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemida) y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 132 Y 152 mg/Kg de peso.

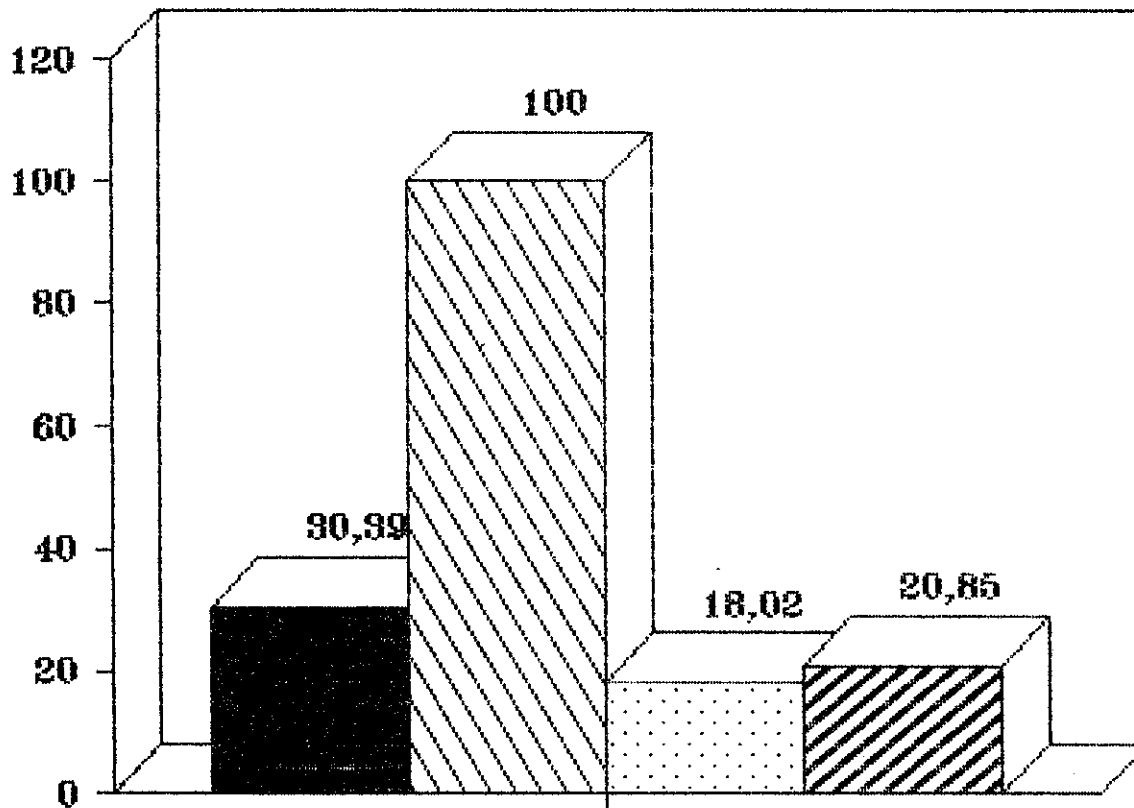
COMPARACIONES	Xc - Xi	Diferencia crítica DUNNETT	Nivel de significancia
Control contra Furosemida	13.13333	3.030011	Significativo
Control contra el Extracto metanólico 132 mg/Kg de peso	2.333333	3.030011	N.S.
Control contra el Extracto metanólico 152 mg/Kg de peso	1.8	3.030011	N.S.

En el presente ensayo, sólo tiene actividad significativa la Furosemida. El extracto metanólico a dosis de 132 y 152 mg/Kg de peso es inactivo como diurético.

GRAFICA No.5

EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE
B. orellana L. 132 Y 152 mg/Kg peso.

PORCENTAJE DE POTENCIA



TRATAMIENTOS



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 15

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 100 y 115 mg/Kg de peso.

Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de Diuresis versus tiempo.

Diseño de Bloques completos Aleatorizados:
4 tratamientos, 5 bloques y 3 réplicas por bloque.

BLOQUE	REPLICAS	Control	Fármaco de referencia	Extracto Metanólico	Extracto Metanólico	Procedio de Bloques (Días)
Días	Rata No.	Vehículo acuoso	Furosemlida 25 mg/Kg	100 mg/Kg	115 mg/Kg	
Bloque 1 (Día 1)	1	9.00	25.00	8.00	9.00	12.42
	2	8.00	27.00	8.00	9.00	
	3	7.00	22.00	10.00	9.00	
Bloque 2 (Día 2)	1	10.00	21.00	11.00	11.00	13.25
	2	6.00	18.00	15.00	15.00	
	3	11.00	18.00	9.00	17.00	
Bloque 3 (Día 3)	1	8.00	22.00	11.00	15.00	12.67
	2	7.00	19.00	11.00	13.00	
	3	8.00	17.00	12.00	9.00	
Bloque 4 (Día 4)	1	8.00	19.00	15.00	20.00	12.58
	2	8.00	19.00	13.00	7.00	
	3	12.00	15.00	11.00	9.00	
Bloque 5 (Día 5)	1	10.00	30.00	10.00	13.00	13.33
	2	9.00	18.00	9.00	10.00	
	3	9.00	22.00	11.00	9.00	
Procedio de tratamientos		8.20	20.60	10.93	11.67	PRONEDIO TOTAL = 12.65
Desviación estándar de tratamientos		1.97	4.10	2.08	3.57	
Coefficiente de Variación de tratamientos		24.06	19.88	19.02	30.61	
Porcentaje de excreción		100.00	281.22	133.33	142.28	
Porcentaje de Potencia		39.81	100.00	59.07	56.65	

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Centro

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 100 y 115 mg/Kg de peso.

H₀: Las medias de todos los tratamientos son iguales.
 H_a: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente.

FUENTE DE VARIACION	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculado	F crítico	significancia
Tratamientos	3	1087.91	352.6367	22.8783	2.75	p < 0.05
Bloques	4	8.232233	2.058058	0.13354	2.59	N.S.
Error	52	801.8067	15.41939			
TOTAL	59	1897.85				

TABLA No. 20

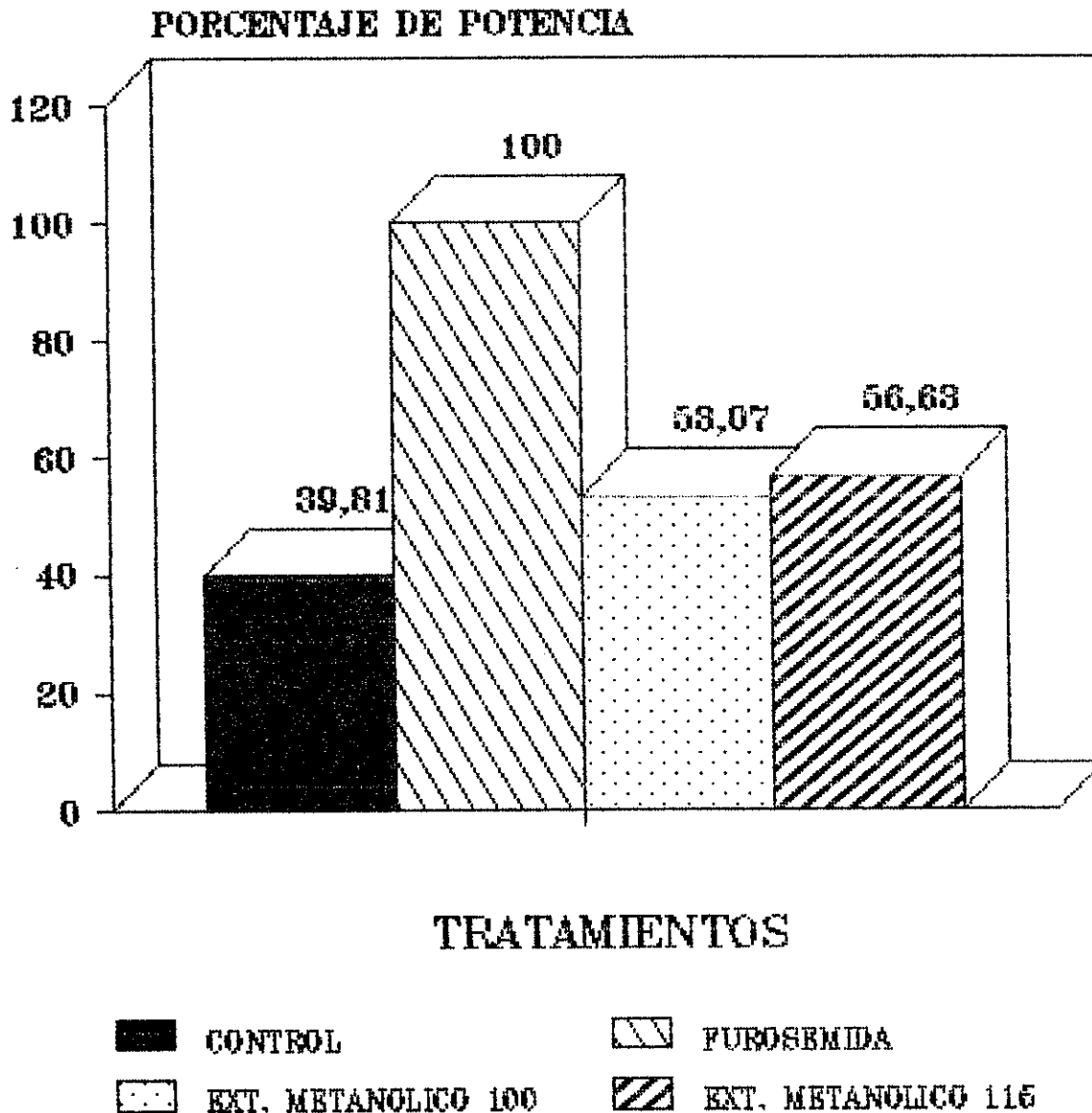
PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control : FARMACO DE REFERENCIA (Furosemda) y EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE Bixa orellana L. A DOSIS DE 100 y 115 mg/Kg de peso.

COMPARACIONES	Xc - Xi	Diferencia crítica DUNNETT	Nivel de significancia
Control contra Furosemda	12.4	3.940937	Significativo
Control contra el Extracto metanólico 100 mg/Kg de peso	2.733333	3.940937	N.S.
Control contra el Extracto metanólico 115 mg/Kg de peso	3.466667	3.940937	N.S.

En el presente ensayo, sólo tienen actividad significativa la Furosemda. El extracto metanólico a dosis de 100 y 115 mg/Kg de es inactivo como diurético.

GRAFICA No.6
EXTRACTO METANOLICO DE HOJAS DE
B. orellana L. 100 Y 115 mg/Kg peso



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 18

8.3 Tamizaje fitoquímico:

8.3.1 Ensayos macro y semimicro:

TABLA No. 21

INVESTIGACION DE ALCALOIDES

Extracto Metanólico de Hojas de Bixa orellana L.

Tubo No.	Reactivo de Prueba	Resultado
1	Ninguno	Testigo
2	Dragendorff	Ligero precipitado
3	Mayer	Ligero precipitado
4	Wagner	Ligero precipitado

TABLA No. 22

INVESTIGACION DE FLAVONOIDES

Extracto Metanólico de hojas de Bixa orellana L.

Tubo No.	Reactivo de Prueba	Resultado
1	Ninguno	Testigo
2	Test de Shibata	Rojo tenue
3	Acido Sulfúrico []	Amarillo
4	Cloruro Férrico 10%	Verde

8.3.2 Cromatografía en capa fina:
8.3.2.1 Extracto metanólico

44.

TABLA No. 23

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA
Extracto metanólico de hojas de *Bixa orellana* L.
Fase móvil: CHCl₃:MeOH:H₂O (80:18:2)

MEDIO VISUALIZADOR							
MEDIOS FISICOS				CROMOGENOS			
Rf	LUZ VIS.	LUV 254nm	LUV 365nm	Anisaldehido	Dragendorff	FeCl ₃ 10%	CeSO ₄
0.84							amarillo
0.30					Naranja claro		
0.27					Naranja		
0.19						Azul grisáceo	
0.18				Café claro			
0.11	amarillo-naranja						

8.3.2.2 Extracto metanólico

TABLA No. 24

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA
 Extracto metanólico de hojas de *Bixa orellana* L.
 Fase móvil: ButOH:Ac.acético:H₂O (65:15:25)

MEDIO VISUALIZADOR							
MEDIOS FISICOS				CROMOGENOS			
Rf	LUI VIS.	LUV 254nm	LUV 365nm	Anisaldehido	Dragendorff	FeCl ₃ 10%	CeSO ₄
0.92							Pardo
0.82						Grís	
0.61					Naranja		
0.37			Celeste				
0.48					Naranja claro		
0.44						Grís	
0.29							Harrón
0.28	Naranja						
0.24				Café oscuro			

9. DISCUSION DE RESULTADOS

9.1 Farmacología Experimental:

9.1.1 Ensayo Toxicológico:

Dado que no se observaron cambios en el comportamiento ni muerte en los animales de experimentación, se infiere que el extracto metanólico de hojas de Bixa orellana L. no es tóxico a dosis menores de 320 mg/Kg de peso, por lo que se pueden ensayar farmacológicamente dosis comprendidas entre 1 y 320 mg/kg de peso de dicho extracto. Como consecuencia de lo anterior, la DL 50 para dicho extracto es mayor de 320 mg/Kg de peso.

9.1.2 Ensayo diurético:

9.1.2.1 Extractos Inactivos:

9.1.2.1.1 Extracto Hexánico:

Los resultados obtenidos demostraron que dicho extracto no posee actividad diurética significativa a dosis de 201 mg/Kg de peso. La resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto es menor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado no demuestra una actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto hexánico, el mismo debía cuando menos tener un 45 % de la potencia de la Furosemda (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas), Por lo anterior se descarta la presencia en el mismo, del principal principio activo responsable de la actividad diurética, y la posibilidad de

experimentación a dosis menores. (Tablas No. 3-5, Gráfica No. 1).

9.1.2.1.2 Extracto Clorofórmico:

Los resultados obtenidos demostraron que dicho extracto no posee actividad diurética significativa a dosis de 201 mg/Kg de peso. La resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto es menor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo anterior el resultado no demuestra una actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto clorofórmico, el mismo debía cuando menos tener un 45 % de la potencia de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Por lo anterior se descartó la presencia en el mismo, del principal principio activo responsable de la actividad diurética, y también la posibilidad de experimentación a dosis menores. (Tablas No. 3-5, Gráfica No. 1).

9.1.2.1.3 Extracto Cloroformo:Metanólico (9:1):

Los resultados obtenidos demostraron que dicho extracto no posee actividad diurética significativa a dosis de 201 mg/Kg de peso. La resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto es menor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado no demuestra una actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto cloroformo:metanólico, el mismo debía cuando menos

tener un 45 % de la potencia de la furosemda (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Por lo anterior se descartó la presencia en el mismo, del principal principio activo responsable de la actividad diurética, y también la posibilidad de experimentación a dosis menores. (Tablas No. 6-8, Gráfica No. 2).

9.1.2.1.4 Extracto Acuoso:

Los resultados demostraron que este extracto a dosis de 201 y 175 mg/Kg de peso, no posee actividad diurética significativa. Las restas de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto a dosis de 201 y 175 mg/kg son menores que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que los resultados no demuestran actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto acuoso, el mismo debía cuando menos tener un 40 % de la potencia de la furosemda (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Por lo anterior se descartó la presencia en el mismo, del principal principio activo responsable de la actividad diurética y la posibilidad de experimentación a dosis menores de las ensayadas. (Tablas No. 9-11, Gráfica No. 3).

9.1.2.2 Extracto Activo:

9.1.2.2.1 Extracto Metanólico:

Los resultados obtenidos demostraron que este extracto posee actividad diurética significativa a dosis de 201 mg/Kg de peso (Tablas No. 6-8, Gráfica No. 2). La resta

de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto es mayor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado demuestra una actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto metanólico, el mismo tuvo que tener al menos un 45 % de la potencia de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Dado que se descartó la actividad diurética significativa de los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo:metanólico 9:1 y acuoso a dosis de 201 mg/Kg de peso (Tablas No. 3-11, Gráficas No. 1-3), se decidió evaluar la actividad diurética del extracto metanólico a todas las dosis propuestas, (201, 175, 152, 132, 115 y 100 mg/Kg de peso), (Tablas No. 12-20, Gráficas No. 4-6). Las restas de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos los extractos es menor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que los resultados no demuestran una actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurética al extracto metanólico a dosis de 175 mg/kg de peso, debía cuando menos tener un 30 % de la potencia de la furosemida, a dosis de 152 y 132 mg/kg de peso, un 35 %, a dosis de 115 y 100 mg/kg de peso, un 60 %, (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Finalmente, se reconfirmó que este extracto tiene actividad diurética significativa, sólo a la dosis de 201 mg/Kg de peso, (Tablas No. 12-14, Gráfica No. 4). La resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el

extracto es mayor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado demuestra una actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto metanólico a dosis de 201 mg/kg de peso, el mismo tuvo que tener al menos 30 % de la potencia de la furosemina (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas), y es inactivo a dosis menores.

9.2 Tamizaje fitoquímico del extracto Metanólico:

9.2.1 Ensayos macro y semimicro:

9.2.1.1 Investigación de Alcaloides:

Los resultados de precipitación con el reactivo de Wagner, Mayer y Dragendorff, proporcionan una evidencia preliminar de la presencia de alcaloides. Lo anterior posiblemente se deba a la presencia de compuestos alcaloidales, y/o aminas terciarias o cuaternarias u óxidos de amina relacionados. (Tabla No. 21).

9.2.1.2 Investigación de Flavonoides:

Los resultados demuestran la presencia de compuestos flavonoidales. (Tabla No. 22)

9.2.2 Cromatografía en Capa Fina:

9.2.2.1 Extracto Metanólico:

Los compuestos con valores de Rf 0.30 y 0.27 (Tabla No. 23) y Rf 0.61 y 0.48 (Tabla No. 24) proporcionan una evidencia de la presencia de alcaloides y/o aminas terciarias o cuaternarias u óxidos de amina relacionados. El compuesto con Rf 0.19 podría ser considerado como

compuesto polifenólico. (Tabla No. 23).

El compuesto fluorescente a 365 nm y Rf 0.57 podría corresponder a un compuesto del tipo fenilpropano con al menos dos dobles enlaces conjugados, (Tabla No. 24).

Se descarta la presencia de fitosteroles en este extracto.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El extracto metanólico de las hojas de Bixa orellana L. (Achiote), posee actividad diurética significativa sólo a la máxima dosis ensayada (201 mg/Kg de peso), ya que contiene al principal principio activo responsable de dicha actividad.
- 10.2 Los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo-metanólico 9:1 y acuoso de las hojas de Bixa orellana L. (Achiote), no tienen actividad diurética significativa a ninguna de las dosis ensayadas.
- 10.3 El extracto metanólico de las hojas de Bixa orellana L., proporcionó una evidencia preliminar de la presencia de alcaloides y/o aminas terciarias o cuaternarias u óxidos de amina; así como compuestos del tipo fenilpropano (cumarinas y/o flavonoides) con al menos dos dobles enlaces conjugados, y/o ácidos orgánicos.
- 10.4 El extracto metanólico evaluado no es tóxico a dosis menores de 320 mg/Kg de peso.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Publicar los resultados obtenidos en el presente estudio para informar que la actividad diurética atribuida a las hojas de Bixa orellana L., esta presente en el extracto metanólico y se necesita administrar dosis mayores o iguales de 201 mg/Kg de peso.
- 11.2 No continuar el estudio de esta planta como diurético, por tener actividad diurética significativa a dosis muy altas.

12. REFERENCIAS

- 12.1 Naik VR., Agskikar NV, Abraham GJ. Cucumis trigonus Roxb.II. Diuretic Activity. J. Ethnopharmacol.1981:15-19.
- 12.2 Ciulei, I. Practical Manuals on the industrial utilization of the Medicinal Plants. Methodology for analysis of vegetable drugs. Bucarest: Fac. of Pharmacy. 1982. 72 p.
- 12.3 Rivas, I.J., Saravia, A. Determinación de la actividad diurética de las infusiones del tallo de Arthrostemma ciliatum Ruiz & Pavon (Caña de Cristo), de las hojas de Bixa orellana L. (Achiote), Chaptalia nutans (L) Polank (Molish) y Spondias purpurea L. (jocote de corona) en ratas albinas. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de Graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1994. 44 p. (p. 4,5,36-38).
- 12.4 Cáceres, A. y Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de Plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de Afecciones Gastrointestinales. No. 6-89. Guatemala: Dirección General de Investigaciones. U.S.A.C. 1989. 138 p. (p. 30-31).
- 12.5 Veliz B., De Veliz G. Plantas Alimenticias de Venezuela. Fundación Bergott. Sociedad de Ciencias Naturales. Lasalle. Monografía No. 37. 227 p. (p. 165).

- 12.6 Standley P.C., Williams L.O. Flora of Guatemala. Fieldiana. Botany. Volume 24, Number 1. Part VII. 1961.
- 12.7 Morton J. Atlas of Medicinal Plants of Middle America: Bahamas to Yucatan. Charles C. Thomas Publisher. Vol. II. United States of America. 1981. 1400 p. (p. 572-573).
- 12.8 Cáceres, A. y Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de Plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de Afecciones Gastrointestinales. Guatemala: cuadernos de Investigación. Dirección General de Investigación. U.S.A.C. 1989. (p. 122).
- 12.9 House Paul, Lagos-Witte, Sonia. Manual Popular de 50 Plantas Medicinales de Honduras. 1era. Edición. Honduras. 1989. (p. 28-29).
- 12.10 Parker, Jean. Mil Plantas Medicinales. Editorial Caymi. Argentina. 1973. p. 19.
- 12.11 Enciclopedia Boliviana. Manual de Plantas Económicas de Bolivia. 2da. Edición. Bolivia: Los Amigos del Libro. 1989. 333 p. (p. 223).



12.12 Figueroa, S.L. Inhibición in vitro de Cándida albicans por las plantas: Argemone mexicana, Bixa orellana, Lantana cámara, Lippia alba, Sedum praealtum, Vicia faba,

Chrysantymun leucanthemum y Sida rhombifolia. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1992.

12.13 Palma, L.E., Perez, R. Contribución al Estudio de Bixa orellana L. (Achiote) como hipoglucemiante. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1981. 31 p. (p. 21-24).

12.14 Robineau L. Towards a Caribbean Pharmacopoeia. Santo Domingo. ENDA-Caribe, UNAH. 1989. p. 61-65.

12.15 Mahabir, G. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo CYTED. Sub programa de Química Fina Farmacéutica. 1era. Edición. Colombia: Presencia Ltda. 1995. p. 198-200.

12.16 Duke J.A., Atchley A. Handbook of Proximate Analysis tables of Higher Plants. Boca Ratón, CRC Press. 1986. 389 p.

12.17 Ayensu, E.S. Medicinal Plants of the West Indies. USA: Reference Publications. 1981. p. 53-56.

- 12.18 Montes, A.L., Caceres, A. Estudio de la Actividad antibacteriana in vitro contra Gardnerella vaginalis de seis plantas de la flora Guatemalteca: Psidium guajava L. (guayaba), Bixa orellana L. (achiote), Persea americana Mill. (aguacate), Theobroma cacao L. (cacao), Hymenoclea bartramia L. (guapinol) y Solanum nigrescens Mart & Gal. (quilete). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1993.
- 12.19 Sabiduría y Ciencia al Servicio de la Salud. Primer Congreso de Plantas Medicinales Chile '90. Santiago, Chile: El Prisma, Chile Ltda. 1990. p. 20-21.
- 12.20 Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. Sta. Ed. México: Botas. 1969. 569 p. (pp. 24-25).
- 12.21 Duke J.A. Isthmian Ethnobotanic Dictionary. Third Edition. Jodrupus India. Scientific Publishers. 1986. p. 25.
- 12.22 Pompa, G. Medicamentos Indígenas. 48 ed. España: Americana. 1981. 342 p.
- 12.23 Aguilar, J.I. Plantas Medicinales. Aspectos de la Flora Util de Guatemala. Guatemala. Ministerio de Agricultura. 1966. 383 p. (p. 348-375).

12.24 Ericastilla, L.A. Evaluación de la actividad in vitro utilizando preparados de Asclepias curassavia L., Bixa orellana L., Chrysobalanus icaco L., Mirabilis jalapa L., Portulaca oleraceae L., Sida rhombifolia L., Tecoma stans (L) HBK, Terminalia catappa L. usadas en el tratamiento de diarrea. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.) 1996. 96 p.

12.25 Mendieta RM. del Amo S. Plantas Medicinales del estado de Yucatán. México: Continental. 1981. 481 p.

12.26 Balbachas A. y Rodríguez H. Las Plantas Curan. 4ta. Edición. Argentina: La Verdad Presente. p. 138.

12.27 Handy C., Sutherland, N. Plantas comunes de Honduras, Tegucigalpa. Universidad Autónoma. Honduras: Universitaria. Tomo I. 1986, 438 pp.

12.28 Evans Richard and Ralfauf Robert. The Healing Forest Medicinal and Toxic Plants of the Horthwest Amazonia. Historial Ethno-Economic Botany Series. Oregon. Volume 2. 1990. 483 p.

12.29 Obletas Poblete, Enrique. Plantas Medicinales de Bolivia. Bolivia: Los Amigos del Libro. Farmacopea Callaway. 1969. p. 36.

12.30 Heinz, Brucher. Useful Plants of Neotropical Origin and their wild Relatives. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 1989. 296 p.

12.31 Martínez M. Las Plantas Medicinales de México. 5ta. Edición. México: Botas. 1959. 621 p. (p. 569, 601).

12.32 Arvigo R., Balick Michael. Rainforest Remedies. One hundred healing herbs of Belize. First Edition. U.S.A. 1993.

12.33 Adams and Sylvester. Medicinal Plants of Trinidad and Tobago. CE. Seaforth, CD. Tobago: Carini. 1983. 221 p.

12.34 Cáceres, A. et al. Actividad antimicrobiana de plantas usadas en Guatemala en el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual. Memorias. IV Semana Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 1990. p. A-1.

12.35 Lara, S.P., Saravia, A. Contribución al Estudio Fitoquímico y Farmacológico de Bixa orellana L. (Achiote). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1983. 34 p.

12.36 López, A.S. Inhibición in vitro de Tricomonas vaginalis por extractos acuosos vegetales de uso popular. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1990. 89 p.

- 12.37 Serrano G., Sandberg, F. Estudio de las propiedades antiinflamatorias de las semillas de Bixa orellana L. Institución para Farmacognosia. Centro Biomédico. Suecia: Universidad de Uppsala. 4 p.
- 12.38 Benoit, P.S. et al. Biological and Phytochemical evaluation of Plants. XIV. Antiinflammatory evaluation of 163 Species of Plants. *Lloydia* 39. 1976. p. 160-171.
- 12.39 Orellana, S.L Indian Medicine in Highland Guatemala. Albuquerque. University of New México Press. 1987. p 181-182.
- 12.40 Spearman G., Karber DJ Finner. *Statistical Method in Biological assay*. London: CH. Griffin and Co. 1952. 524 p.
- 12.41 Manual de Técnicas de Investigación. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 1995. 226 p. (p 49,50,226).
- 12.42 Cronquist, Arthur. *An integrated System of Classification of Flowering plants*. New York: Columbia University Press. 1981.
- 12.43 Goodman y Gilman, et al. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 8a. edición. México: Médica Panamericana. 1951. 1731 p. (p. 1628).

13. ANEXOS

INDICE DE ANEXOS

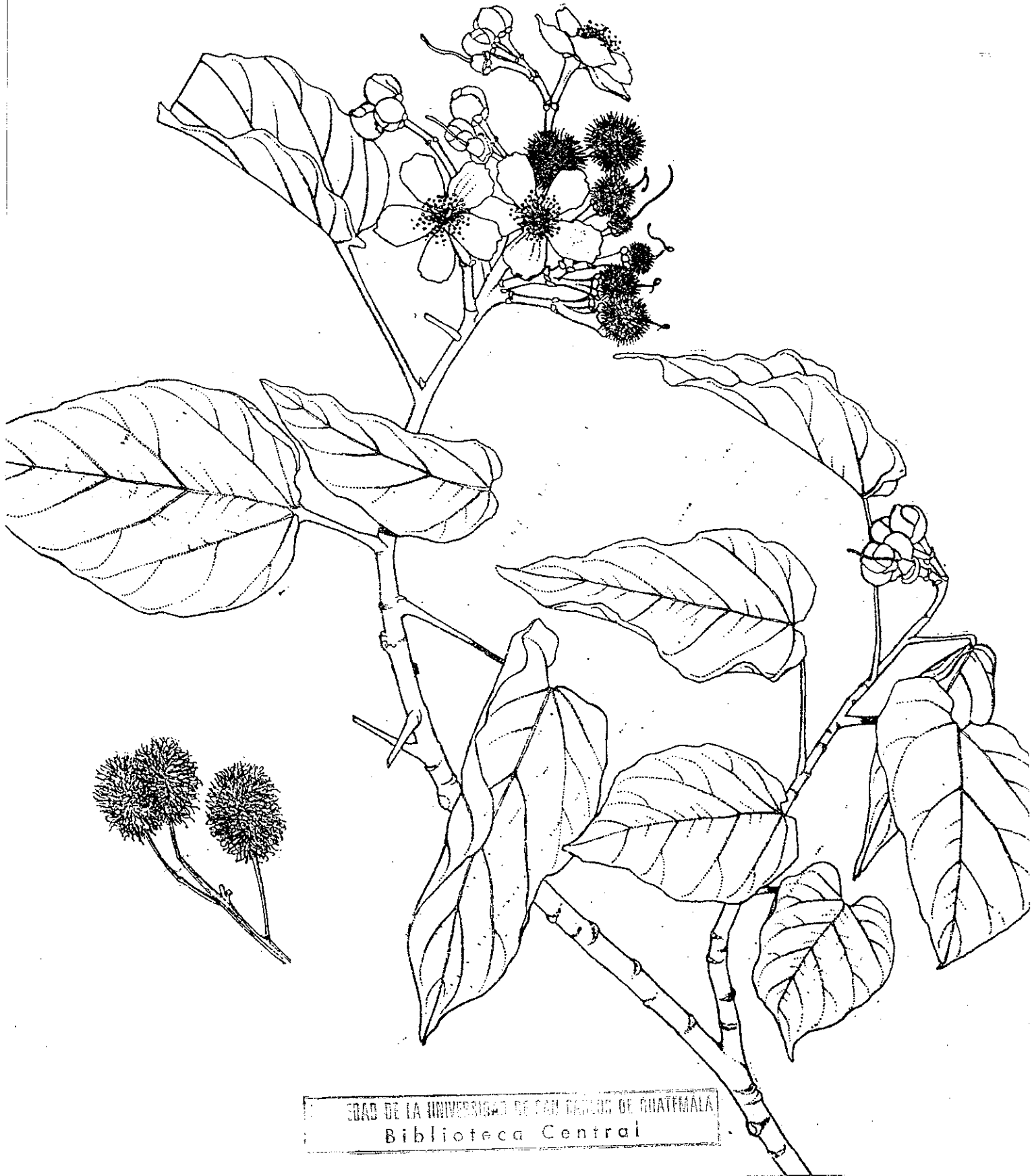
	Pag.
Anexo 13.1 Identificación Botánica de <u>Bixa orellana</u> L.	62.
Anexo 13.2 Dibujo de la planta <u>Bixa orellana</u> L.	63.
Anexo 13.3 Farmacología sobre la Furosemida	64.

PROPIEDAD DEL INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
LIBRERÍA

ANEXO No. 13.1

Identificación Botánica

Reino:	Vegetal
Sub-reino:	Embryobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Sub-clase:	Dilleniidae
Orden:	Violales
Familia:	Bixaceae
Género:	Bixa
Especie:	<u>Bixa orellana</u> L. (42)



COLEGIO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

ANEXO No. 13.3

Farmacología sobre Furosemida:

La furosemida es un diurético, es decir que es un agente que aumenta la velocidad de formación de la orina. Tiene una acción característica sobre la función tubular renal. Su sitio de acción principal es la rama ascendente gruesa del asa de Henle, por lo que se denomina Diurético de Techo Alto.

- Mecanismo de Acción: Actúa principalmente inhibiendo la reabsorción de electrólitos en la rama ascendente gruesa del asa de Henle.

- Absorción, distribución y excreción:

Este fármaco es absorbido fácilmente del tracto gastrointestinal. La biodisponibilidad de la furosemida es de alrededor del 60%.

Está firmemente unido a las proteínas plasmáticas, pero es secretado rápidamente por el sistema de transporte de ácidos orgánicos del túbulo proximal. Una gran fracción de la furosemida es excretada como tal y una fracción menor como glucurónido.

- Toxicidad clínica:

La hiperuricemia, alteraciones gastrointestinales, depresión de los elementos formes de la sangre, erupciones cutáneas, parestesias y disfunción hepática. Puede observarse una disminución en la tolerancia a los carbohidratos. La hipoglucemia aguda de origen desconocido ha sido registrada como manifestación de sobredosis.

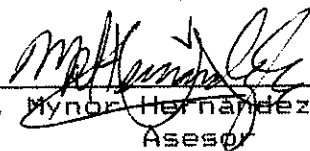
- Usos terapéuticos:

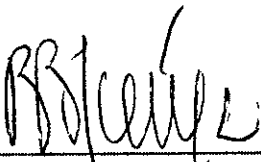
Para el tratamiento del edema de origen cardíaco, hepático o renal.


En el manejo del edema refractario. (43).

(f) 
Jéssica Lurbin Dávila Dávila
Autora.

f) 
Licda. Marta Inés Reyes Mayén
Asesora

f) 
Lic. Mynor Hernández Espina
Asesor

(f) 
Licda. Beatriz Batríz de Jiménez.
Directora.

f) 
Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano

