

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
Hibiscus sabdariffa L. (ROSA DE JAMAICA), COMO DIURETICOS
(ESTUDIO FARMACOLOGICO DE FASE II)"

INFORME DE TESIS

Presentado por:

Vivian Margarita Sánchez Garrido

Para optar el título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, agosto de 1997.

06
T. (1803)
C. 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 PRIMERO: Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez

VOCAL SEGUNDO: Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

VOCAL TERCERO: Lic. Rodrigo Herrera San José

VOCAL CUARTO: Br. Ana María Rodas Cardona

VOCAL QUINTO: Br. Hayro Oswaldo García García



AGRADECIMIENTOS

A LOS QUIMICOS FARMACEUTICOS

Licda. Marta Inés Reyes Mayen y
Lic. Mynor Rolando Hernández Espina,
por su valiosísimo asesoramiento
en esta tesis.

AL DEPTO. DE FARMACOLOGIA

por dar las facilidades para
realizar la fase experimental de
la investigación.

AL BIOTERIO

por facilitar el espacio físico
para la crianza de ratas albinas.

A JESSICA DAVILA

por su solidaridad.

A TODAS LAS PERSONAS

que contribuyeron, en alguna manera,
en la ejecución de esta tesis.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE FARMACOLOGIA

I N D I C E

| | Pag. |
|------------------------------|------|
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. INTRODUCCION..... | 3 |
| 3. ANTECEDENTES..... | 4 |
| 4. JUSTIFICACION..... | 9 |
| 5. OBJETIVOS..... | 10 |
| 6. HIPOTESIS..... | 11 |
| 7. MATERIALES Y METODOS..... | 12 |
| 8. RESULTADOS..... | 20 |
| 9. DISCUSION..... | 50 |
| 10. CONCLUSIONES..... | 56 |
| 11. RECOMENDACIONES..... | 57 |
| 12. REFERENCIAS..... | 58 |
| 13. ANEXOS..... | 60 |

1. RESUMEN

El presente estudio fue realizado con el propósito de evaluar la actividad diurética de los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo:metanólico, metanólico y acuoso de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica), como un estudio farmacológico de Fase II. (Fase I (1)).

Los extractos fueron preparados por maceración de las flores secas y molidas de Hibiscus sabdariffa L. con cada solvente. Los extractos obtenidos fueron evaluados a través del método para actividad diurética de Naik y colaboradores, modificado por Saravia. (2) Para el extracto con actividad diurética significativa se ensayó la toxicidad aguda (DL₅₀) por medio del método de Spearman y Karber (3), para garantizar la inocuidad del mismo. El tamizaje fitoquímico se realizó por medio de ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por Ciulei (4), para el extracto activo.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos, se realizó calculando el área bajo la curva diuresis versus tiempo como variable de respuesta. Con los promedios del área bajo la curva de los tratamientos, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías y al establecer diferencia entre los tratamientos, se realizó la prueba de Dunnett, para evaluar el efecto diurético de los tratamientos frente al control, con un nivel de significancia de p menor de 0.05.

La actividad diurética de los extractos, se evaluó por medio de la administración oral de los diferentes extractos, a ratas albinas, a diferentes dosis, 100, 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso (establecidas de manera arbitraria y en progresión geométrica). El análisis demostró que el extracto cloroformo:metanólico (9:1) de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) presenta actividad diurética significativa a dosis de 201, 175, 152, 132 y 115 mg/kg de peso, el extracto clorofórmico y metanólico presentan actividad diurética a dosis de 201 mg/kg de peso, y los extractos hexánico y acuoso no presentan actividad diurética a ninguna de las dosis ensayadas. El extracto cloroformo:metanólico (9:1) no mostró toxicidad aguda a las dosis ensayadas 10, 20, 40, 180 y 320 mg/kg de peso. Los resultados de tamizaje fitoquímico del extracto activo, proporcionaron la evidencia preliminar de la presencia de compuestos del tipo fenilpropano (cumarinas y/o flavonoides), polifenoles y/o ácidos orgánicos.

2. INTRODUCCION

El uso de plantas medicinales es común en la población Guatemalteca. Tanto por la riqueza botánica que posee como por la tradición popular de sus habitantes. Considerando la importancia que tienen las plantas medicinales por la práctica común, tradicional y económica, se hizo necesario validar científicamente las propiedades farmacológicas que se atribuyen a estas. Dentro de las diversas propiedades farmacológicas de algunas plantas medicinales se hizo necesario validar la actividad diurética.

La diuresis es un proceso importante para excretar metabolitos, mantener el equilibrio hidroelectrolítico y eliminar sustancias tóxicas. Esta es utilizada para el tratamiento de disuria, infección urinaria y movilización del líquido de edema, entre otros. Las flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica) tiene actividad diurética demostrada, fase I (1). Por lo que este estudio pretendió ampliar los conocimientos científicos realizando la investigación farmacológica y fitoquímica de fase II para plantas medicinales.

La investigación farmacológica se dividió en el ensayo de la actividad diurética, por medio del método modificado de Naik y col., a su vez modificado por Saravia A. (2), utilizando los extractos hexánico, clorofórmico, cloroformo:metanólico (9:1), metanólico y acuoso. Y el ensayo toxicológico, por medio del método de Spearman y Karber (3). La investigación fitoquímica se realizó utilizando ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por Ciulei (4).

3. ANTECEDENTES

Popularmente se le atribuyen varias cualidades medicinales a la Rosa de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.). Las principales son: digestivas, diuréticas y febrífugas. También se le atribuyen propiedades diaforéticas, antidiarréicas antiescorbúticas, estomáquicas y emolientes. Es eficaz para los malestares provocados al día siguiente de ingerir bebidas alcohólicas. Y tiene efectos coleréticos, disminuye la viscosidad de la sangre, reduce la presión sanguíneas y estimula el peristaltismo intestinal (5-10).

Martínez, determinó el efecto diurético y uricosúrico en ratas albinas. Ramírez, determinó el efecto depresor sobre la absorción del alcohol en pollos. Sharat, determinó que los extractos de las flores contienen azúcares reductores, ácidos, un alcaloide en pequeña cantidad y resinas, y poseen propiedad antiespasmódica en el intestino y músculo liso del útero; además, la infusión puede utilizarse como hipotensor puesto que disminuye la presión arterial sin producir efectos secundarios, actúa como antihelmíntico en la teniasis y posee acciones antibacterianas. Estudios realizados en Nigeria determinaron también que la Rosa de Jamaica posee propiedades diuréticas, coleréticas, hipotensoras, además de que hace decrecer la viscosidad sanguínea y estimula el peristaltismo intestinal. En la medicina popular de Guatemala, se utiliza para el "catarro, dolor de pecho, fiebre, gripe e hinchazón" (5).

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS

La infusión acuosa de Hibiscus sabdariffa (Rosa de Jamaica), recolectada en su habitat natural y botánicamente identificada, posee acción diurética, pero de menor potencia que el fármaco utilizado como referencia, hidroclorotiazida (1).

La adición del extracto acuoso de los cálices de Hibiscus sabdariffa L. (2.5 ml/baño = 125 mg de material crudo inicial) inhibe el tono de varias preparaciones de músculos aislados (aorta de conejo, el útero de rata que se contrae rítmicamente, cadena traqueal de cobayo y diafragma de rata). Otros músculos fueron estimulados (el útero de rata inmóvil y el abdomen recto de rana). Parece ser que éste extracto contiene sustancias con ambas propiedades estimulatorias e inhibitorias dependiendo del tejido estudiado (11).

Se realizó un estudio sobre la estructura química y actividad biológica de los polisacáridos de Hibiscus sabdariffa L. del cual se aislaron tres polisacáridos solubles en agua de los botones de las flores (HIB 1,2,3). Los polisacáridos neutros (HIB 1 y 2) están compuestos de arabinosos y arabinogalactoso de relativo bajo peso molecular. La cadena principal está compuesta de alfa-1,4- ligando ácido galacturónico (24% metilesterificado) y alfa-1,2-ligando ramnosa. Las cadenas laterales están constuidas de galactosa y arabinosa y están conectadas con la cadena principal por el C-4 de cada tercera ramnosa. Todas las fracciones mostraron alguna actividad, pero la principal fracción acídica fue contaminada con lipopolisacáridos, y por esta razón su actividad demostrada

tiene que ser discutida cuidadosamente (12).

Se estudió el mecanismo del efecto relajante mediado el extracto acuoso de los pétalos de Hibiscus sabdariffa en la aorta aislada de rata. Los resultados mostraron que éste extracto tiene un efecto relajante directo en la noradrenalina del músculo vascular liso precontraído. Este estudio demuestra que el efecto vasorelajante de éste extracto es mediado a través de la inhibición del flujo de calcio del medio extracelular también como la inhibición de calcio relaja de los sitios de almacenamiento intracelulares (13).

El extracto acuoso de los cálices de Hibiscus sabdariffa induce una actividad semejante a la estrogénica en ratas hembras inmaduras cuando se les inyecta una dosis de 500 mg/kg i.p. La actividad de la Rosa de Jamaica en el aumento de peso uterino fue cerca de 1/3 que el del estradiol a una dosis de 2 mg/kg. De este estudio, se manifiesta que la Rosa de Jamaica muestra una actividad estrogénica débil que necesita investigaciones más amplias (14).

COMPOSICION QUIMICA

La flor de la planta parece ser rica en ciertos ácidos orgánicos, mucílago, derivados flavónicos y un pigmento rojo. Copertini, informa de la presencia de nitrógeno libre, celulosa, cenizas y sales de hierro, manganeso, magnesio, sodio, potasio, incluyendo sulfatos y fosfatos, en las flores de Rosa de Jamaica (5).

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA
CARACAS, VENEZUELA



Las flores por 100 g reportan que contienen calorías 44, agua 86.2%, proteína 1.6 g, grasas 0.1 g, carbohidratos 11.1 g, fibra 2.5 g, cenizas 1.0 g, calcio 160 mg, fósforo 60 mg, hierro 3.8 mg, Beta-caroteno 285 microgramos, tiamina 0.04 mg, riboflavina 0.06 mg, niacina 0.5 mg, y ácido ascórbico 14 mg.

Las flores secas sin los ovarios contienen una mezcla del 13% de ácido málico y cítrico, dos antocianinas gospipentina (hidroxiflavona) e hibiscina, y 0.004 a 0.005% de ácido ascórbico. Las flores contienen fitosterol y secas contienen circa 15.3% de ácido hibiscico (15).

El análisis realizado en el polvo seco de la flor, muestran: Humedad 5.9%, Acidez (como acidez cítrica) 15.7%, Proteína cruda 6.9%, Cenizas 7.9%, Carbohidratos por diferencia 62.4%, Azúcares reductores 6.9%, Azúcares no reductores 0.3% (5).

En resumen puede decirse de la composición química de las flores de Hibiscus sabdariffa que es rica en ácidos orgánicos como el ácido glicólico, cítrico, tartárico, oxálico, L-ascórbico, málico, malónico e hibiscico. Posee antocianinas entre las que se encuentran el Hibiscina-HCl, cianidin-3-sambubiósido y el cianidin-3-glucósido. Contienen mucílago y pectina que consiste en alto porcentaje de ácido anhidrouónico; azúcares y almidón en bajo porcentaje. Entre los glucósidos flavonoides que contiene están el hibiscitrín, gospitrín-3-glucósido, sabdaretrín y quercetina (5).

El extracto etanólico de la Rosa de Jamaica posee una gran cantidad de compuestos básicos cuaternarios y fenólicos no cuaternarios solubles en agua (5).

USOS NO MEDICINALES

La flor es utilizada como refresco y se elabora de ella una bebida fermentada o vino durante la navidad (ponche). Además se preparan dulces, jaleas, jarabes y mermeladas (6-9, 16-19).

OTROS USOS

Como fibra, la planta cuando está en flor, se corta y se ata en manojos pequeños que se sumergen en el agua por 15 a 20 días, después se lava y obtiene una fibra fuerte y sedosa que puede ser igual en calidad al kenaf; Como forraje, las hojas son un buen alimento para el ganado; las semillas sirven como alimento de aves (7-9, 18-19).

4. JUSTIFICACION

La OMS estima que un 80% de la población, de los países en desarrollo, confían en los remedios tradicionales para atender sus necesidades básicas y declaró en Alma Ata, (1977), que para el año 2,000, los países en el mundo deben emplear en los problemas de salud, plantas medicinales.

Los fármacos diuréticos son empleados para el tratamiento de diferentes patologías, y son clasificados de acuerdo a su costo, en precio moderado, pero con la desventaja que en ciertas patologías el tratamiento es prolongado, lo que eleva el costo y la probabilidad de causar efectos secundarios.

Considerando la importancia de este recurso natural para la salud en general, es necesario continuar validando científicamente las plantas con uso popular con actividad diurética. Por lo que en este estudio se desarrollará la Fase II de investigación farmacológica y fitoquímica de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica), planta con actividad diurética demostrada, Fase I (1). Con la cual se caracterizará fitoquímicamente el extracto de la planta que posea la actividad farmacológica.

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 flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica).
- 5.2.2. Identificar por medio de pruebas químicas, él o los grupos fitoquímicos presentes en el extracto de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica), que posea la mayor actividad diurética demostrable.
- 5.2.3. Determinar la Dosis Letal 50 (DL 50) de él o los extractos crudos de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica), responsable de la actividad diurética.

6. HIPOTESIS

- 6.1. Al menos uno de los extractos obtenidos a partir de las flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica) posee actividad diurética, significativa, demostrable en un modelo animal.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. UNIVERSO DE TRABAJO

Extractos obtenidos de especímenes vegetales de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica)

7.2. MEDIOS

7.2.1. Recursos Humanos:

7.2.1.1. Autora del trabajo: Vivian M. Sánchez Garrido.

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: Flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica).

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 flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de Jamaica) en el departamento de Escuintla, Guatemala; secado en horno y molienda en molino de aspas.

7.3.3. Herborización e identificación de la planta.

7.3.4. PREPARACION DE LOS EXTRACTOS.

7.3.4.1. Extracto Hexánico: Se macera 500-1000 gr. del material vegetal, seco y molido, en un frasco hermético de aproximadamente un galón de capacidad, de color ámbar. Posteriormente se adiciona 1000 ml o más de n-hexano. Se tapa el frasco y agita periódicamente por 48 horas o más. Se filtra la mezcla. 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 la Rosa de Jamaica. Se evapora cada extracto filtrado hasta que la cantidad de residuo seco obtenido, no tenga una variación mayor del 1% en peso de extracto.

7.3.4.2. Extracto clorofórmico: 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.

7.3.4.3. Extracto cloroformo:metanólico (9:1): Se macera el material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto clorofórmico, con 1000 ml o más de cloroformo:metanol (9:1). Se sigue el procedimiento del extracto anterior.

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

7.3.4.5. Extracto acuoso: Se macera el material vegetal residual utilizado para la preparación del extracto metanólico, con 1000 ml o más de agua. Se sigue el procedimiento del extracto anterior.

7.3.5. FORMULACION DE LOS EXTRACTOS

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

7.3.6. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DIURETICA

Se utiliza el método de Naik y col, modificado por Saravia (2). Se utilizan 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 estos sean el fármaco de referencia y el control, y los otros dos sean 2 extractos a la misma dosis o 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 colocan 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.

7.3.7. ENSAYO TOXICOLOGICO (Método de Spearman y Karber (3))

Se determina la Dosis Letal Media (DL 50) al extracto que presente 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 aumenta en progresión geométrica (entre 50 y 15000 mg/kg de peso, preferiblemente) (20), observándose el comportamiento de ratones, peso y número de animales muertos. La muerte puede manifestarse a las 1, 2, 4, 6, 24, 48 horas 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.

7.3.8. CARACTERIZACION FITOQUIMICA

Se realiza un tamizaje fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicro de acuerdo al esquema sugerido por Ciulei para la investigación de metabolitos secundarios (4). Se utiliza también técnicas cromatográficas (CCF) convencionales para la caracterización fitoquímica preliminar, ésto se lleva a cabo con el extracto que presenta mejor respuesta diurética.

7.3.8.1. Investigación de Flavonoides: 5 g de extracto cloroformo:metanólico 9:1 se hidrolizan con HCL 2N mediante reflujo y calentamiento durante media hora. El extracto hidrolizado resultante se parte con dietiléter. Una parte (4 ml) de la solución etérica se reconcentra a sequedad, se redisuelve en etanol al 80% y se divide en 4 tubos de ensayo.

Los tubos se tratan y evalúan 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%.

7.3.8.2. Investigación de Alcaloides: 1 g de extracto cloroformo:metanólico 9:1 se trata con solución de hidróxido de amonio al 10% (2 gotas) y seguidamente se le añade 25 ml de metanol a 65°C. Posteriormente la solución se filtra y el filtrado se acidifica con HCl 2N. La solución resultante se divide en 4 tubos de ensayo, y se evalúan 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 de Mayer.

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

7.3.8.3. Cromatografía en capa fina.

Se corren cromatografías del extracto cloroformo:metanólico 9:1 (extracto activo).

7.3.8.3.1. Fase Estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄.

7.3.8.3.2. Fase Móvil: a. Cloroformo-metanol-agua (80:18:2).

b. Butanol-ácido acético-agua (65:15:25).

7.3.8.3.3. Visualización de manchas:

7.3.8.3.3.1. Reveladores:

- a. Anisaldehído.
- b. Dragendorff.
- c. Cloruro férrico.
- d. Sulfato de cerio.

7.3.8.3.3.2. Medios físicos:

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

7.3.8.3.4. Estándares:

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

7.3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño que se utiliza es el de bloques completos al azar con cinco bloques y tres réplicas por bloque (alfa = 0.005 y beta = 0.20).

7.3.9.1. 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.

7.3.9.2. 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 flores secas de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) fue (enumerando de mayor a menor porcentaje): Metanólico, Cloroformo:metanólico 9:1, acuoso, clorofórmico y hexánico (Tabla No.1).

TABLA No. 1

| Material vegetal inicial (gramos) | Extracto | Extracto obtenido (gramos) | Rendimiento (%) (p/p) |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------|
| 757 | Hexánico | 3.1 | 0.41 |
| | Clorofórmico | 4.7 | 0.62 |
| | CHCl ₃ MeOH* | 73.0 | 9.64 |
| | Metanólico | 96.7 | 12.77 |
| | Acuoso | 7.5 | 0.99 |

*Cloroformo metanólico 9:1.

El extracto activo, Cloroformo:metanólico 9:1, obtuvo un rendimiento extractivo de 9.64 %. Del cual se parte para obtener la cantidad de flor seca de Hibiscus sabdariffa 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 (FLOR DE Hibiscus sabdariffa L.) POR DOSIS

| DOSIS mg/kg de peso | GRAMOS DE FLOR SECA <u>Hibiscus sabdariffa</u> L. g de planta seca/kg de peso |
|------------------------|---|
| 201 | 2.08 |
| 175 | 1.82 |
| 152 | 1.58 |
| 132 | 1.37 |
| 115 | 1.19 |
| 100 | 1.04 |

8.2. FARMACOLOGIA EXPERIMENTAL

8.2.1. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DIURETICA:

A continuación se presentan tablas y gráficas en los que se detallan los resultados de la evaluación diurética.

TABLA No. 3

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS
HEXANICO Y CLOROFORMICO DE FLORES DE
Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

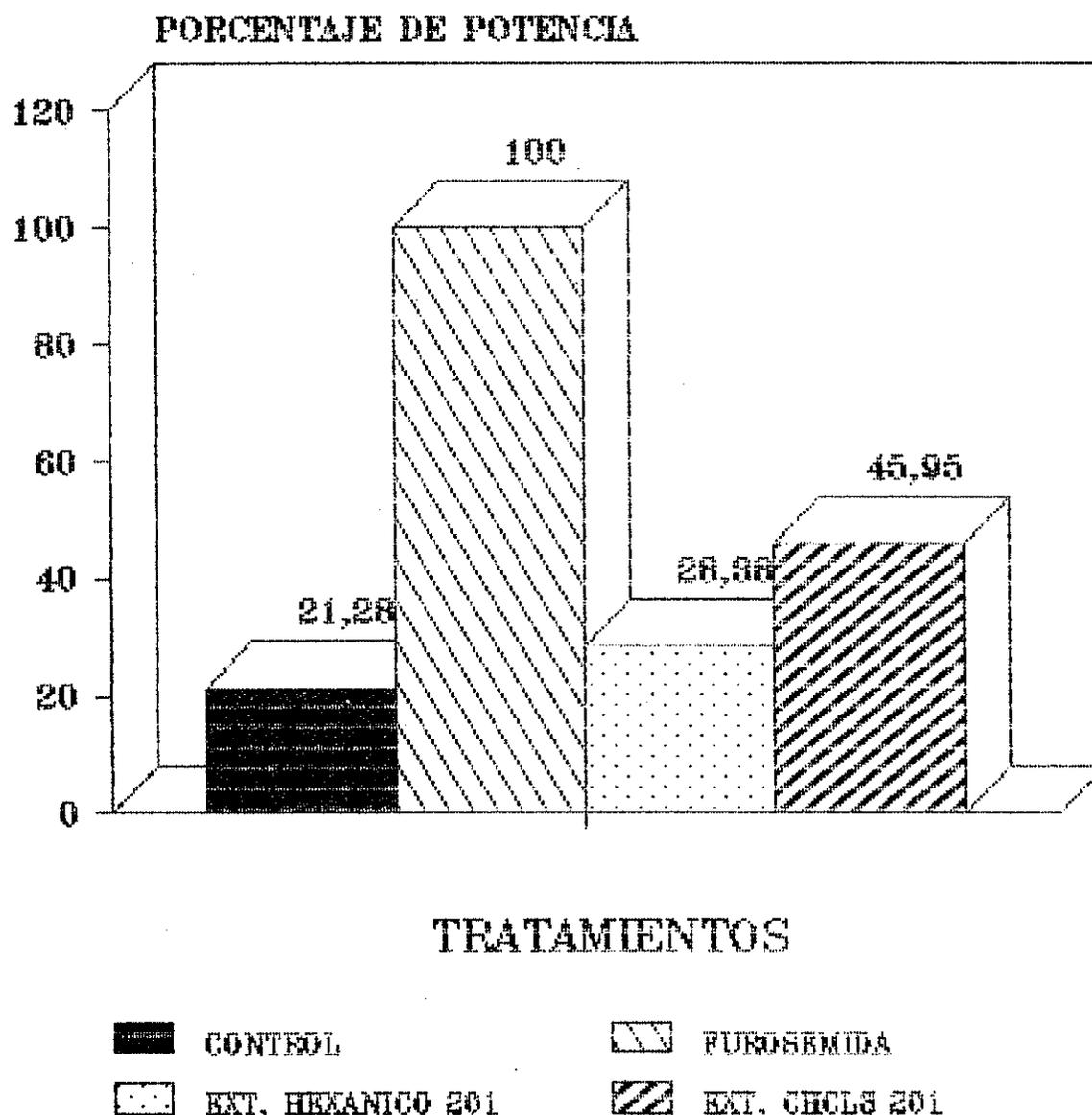
Variable de Respuesta: Valores de áreas bajo la curva % de
Diuresis versus tiempo.

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

| BLOQUES | REPLICAS | Control | Fármaco de referencia | Extracto Hexánico | Extracto Cloroformico | Promedio de Bloques (Días) |
|---|----------|-----------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|----------------------------|
| Días | Reta No. | Vehículo acuoso | Furosemida 25 mg/Kg | 201 mg/Kg | 201 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 | 3.00 | 16.00 | 4.00 | 7.00 | 7.79 |
| | 2 | 3.00 | 15.00 | 4.00 | 7.00 | |
| | 3 | 4.80 | 17.00 | 8.00 | 8.00 | |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 | 4.00 | 13.00 | 8.00 | 10.00 | 10.13 |
| | 2 | 3.50 | 22.00 | 8.00 | 11.00 | |
| | 3 | 6.00 | 21.00 | 8.00 | 10.00 | |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 | 3.00 | 29.00 | 9.00 | 9.00 | 12.17 |
| | 2 | 3.00 | 27.00 | 7.00 | 11.00 | |
| | 3 | 4.00 | 25.00 | 4.00 | 11.00 | |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 | 5.00 | 22.00 | 8.00 | 8.00 | 8.30 |
| | 2 | 6.00 | 10.00 | 4.00 | 10.00 | |
| | 3 | 3.00 | 19.00 | 6.00 | 9.00 | |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 | 3.00 | 20.00 | 8.00 | 3.00 | 9.67 |
| | 2 | 4.00 | 18.00 | 3.00 | 12.00 | |
| | 3 | 4.00 | 22.00 | 7.00 | 13.00 | |
| Promedio de tratamientos | | 4.20 | 19.73 | 5.60 | 9.07 | PROMEDIO TOTAL = 9.65 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.00 | 4.97 | 1.74 | 2.59 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 23.73 | 25.20 | 31.13 | 28.61 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 469.84 | 133.33 | 213.87 | |
| Porcentaje de Potencia | | 21.26 | 100.00 | 28.38 | 48.95 | |

GRAFICA No.1

EXTRACTOS HEXANICO Y CLOROFORMICO DE FLORES DE H. sabdariffa L. 201mg/Kg peso



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

TABLA No. 6

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO (9:1) Y METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa 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 | Furosemida 25 mg/Kg | 201 mg/Kg | 201 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 2 3 | 5.00 5.00 5.00 | 11.00 15.00 15.00 | 7.00 8.00 11.00 | 8.00 5.00 9.00 | 8.58 |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 2 3 | 7.00 4.00 5.00 | 13.00 20.00 15.00 | 11.00 9.00 9.00 | 9.00 7.00 8.00 | 10.08 |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 2 3 | 5.00 5.00 5.00 | 15.00 30.00 15.00 | 10.00 15.00 13.00 | 10.00 12.00 7.00 | 12.33 |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 2 3 | 7.00 4.00 3.00 | 17.00 15.00 15.00 | 7.00 7.00 8.00 | 5.00 5.50 8.00 | 8.71 |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 2 3 | 7.00 5.00 4.00 | 13.00 15.00 17.00 | 10.00 5.00 8.00 | 9.00 7.00 10.00 | 9.00 |
| Promedio de tratamientos | | 5.27 | 16.52 | 9.07 | 8.10 | PROMEDIO TOTAL = 9.74 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.18 | 4.35 | 2.59 | 1.73 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 22.43 | 26.31 | 28.61 | 21.41 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 313.92 | 172.15 | 153.80 | |
| Porcentaje de potencia | | 31.85 | 100.00 | 34.84 | 45.93 | |

TABLA No. 7

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS CLOROFORMO:METANOLICO (9:1) Y METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa 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 | 863.9775 | 286.9925 | 29.42599 | 2.76 | $p < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 117.5167 | 29.37917 | 3.002873 | 2.89 | N.S. |
| Error | 52 | 508.7517 | 9.783686 | | | |
| TOTAL | 59 | 1490.246 | | | | |

TABLA No. 8

PRUEBA DE DUNNETT

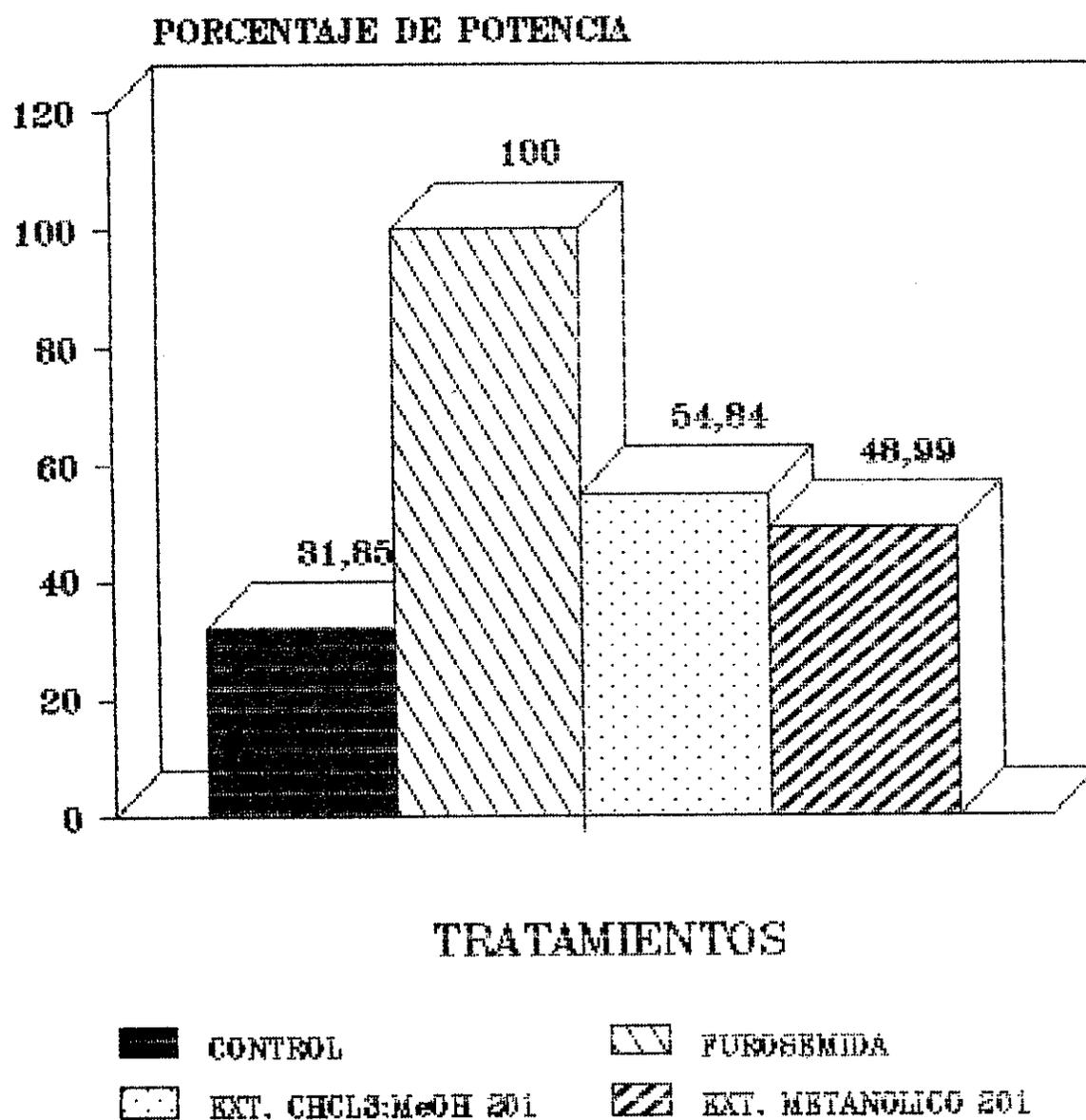
Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemida) y EXTRACTOS CLOROFORMO:METANOLICO (9:1) Y METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L.
 A DOSIS DE 201 mg/Kg de peso.

| COMPARACIONES | $X_c - X_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|--|-------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemida | 11.28667 | 2.821094 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico (9:1) 201 mg/Kg de peso | 3.8 | 2.821094 | Significativo |
| Control contra el Extracto metanólico 201 mg/Kg de peso | 2.833333 | 2.821094 | Dudoso |

En el presente ensayo la furosemida y los dos extractos tienen actividad significativa, pero el metanólico se considera dudoso ya que su valor $|X_c - X_i|$ es muy cercano al valor Dunnett crítico.

GRAFICA No.2

EXTRACTOS CHCL₃:MeOH (9:1) Y MeOH DE FLORES DE H. sabdariffa L. 201mg/Kg peso



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

TABLA No. 9

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 | Reta No. | Vehículo acuoso | Furoseida 25 mg/Kg | 175 mg/Kg | 201 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 | 4.00 | 15.00 | 8.00 | 8.00 | 7.88 |
| | 2 | 8.00 | 17.00 | 5.00 | 4.00 | |
| | 3 | 3.00 | 9.00 | 8.00 | 8.00 | |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 | 8.00 | 22.00 | 7.00 | 8.00 | 9.78 |
| | 2 | 8.00 | 20.00 | 7.00 | 8.00 | |
| | 3 | 8.00 | 17.00 | 6.00 | 7.00 | |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 | 8.00 | 19.00 | 10.00 | 9.00 | 9.42 |
| | 2 | 4.00 | 18.00 | 4.00 | 10.00 | |
| | 3 | 5.00 | 18.00 | 8.00 | 8.00 | |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 | 8.00 | 13.00 | 8.00 | 8.00 | 8.87 |
| | 2 | 9.00 | 9.00 | 9.00 | 8.00 | |
| | 3 | 8.00 | 17.00 | 7.00 | 11.00 | |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 | 7.00 | 22.00 | 8.00 | 10.00 | 9.38 |
| | 2 | 8.00 | 20.00 | 4.00 | 5.00 | |
| | 3 | 8.00 | 19.00 | 4.00 | 3.00 | |
| Promedio de tratamientos | | 6.07 | 16.80 | 6.13 | 7.00 | PROMEDIO TOTAL = 9.00 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.39 | 2.90 | 1.78 | 2.31 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 23.18 | 23.23 | 29.08 | 32.99 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 276.92 | 101.10 | 118.38 | |
| Porcentaje de potencia | | 35.11 | 100.00 | 38.51 | 41.67 | |

TABLA No. 10

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO
ACUOSO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa 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 crítico | significancia |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------|-----------|-----------------|
| Tratamientos | 2 | 1027.947 | 342.6489 | 32.4124 | 2.76 | $\alpha < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 39.33333 | 9.833333 | 0.90822 | 2.53 | N.S. |
| Error | 52 | 549.72 | 10.57154 | | | |
| TOTAL | 59 | 1616.00 | | | | |

TABLA No. 11

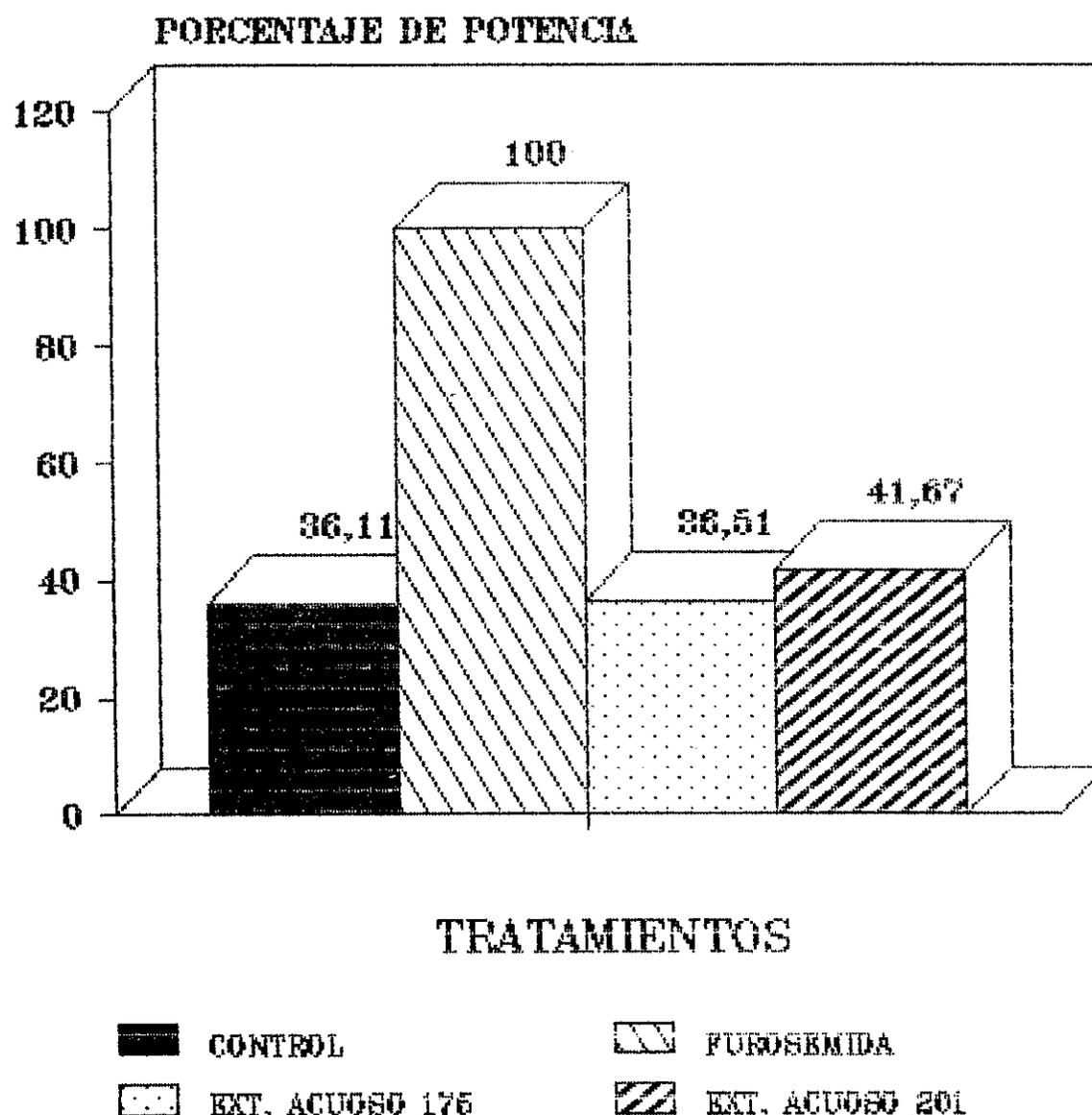
PRUEBA DE DUNNETT

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

| COMPARACIONES | $X_c - X_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|---|-------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemda | 10.73333 | 2.932482 | Significativo |
| Control contra el Extracto acuoso 175 mg/Kg de peso | 0.066667 | 2.932482 | N.S. |
| Control contra el Extracto acuoso 201 mg/Kg de peso | 0.93333 | 2.932482 | 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 FLOR DE H. sabdariffa
A DOSIS DE 175 Y 201 mg/Kg de peso.



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

TABLA No. 12

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS
HEXANICO Y CLOROFORMICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A
DOSIS DE 175 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 | Promedio de Bloques (Días) |
|---|----------|-----------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|----------------------------|
| Días | Rata No. | Vehículo acuoso | Furosemda 25 mg/Kg | 175 mg/Kg | 175 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 | 4.00 | 32.00 | 5.00 | 6.00 | 9.00 |
| | 2 | 4.00 | 18.00 | 4.00 | 8.00 | |
| | 3 | 5.00 | 17.00 | 3.00 | 3.00 | |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 | 6.00 | 15.00 | 6.00 | 4.00 | 9.50 |
| | 2 | 4.00 | 28.00 | 7.00 | 7.00 | |
| | 3 | 7.00 | 21.00 | 8.00 | 7.00 | |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 | 6.00 | 23.00 | 7.00 | 3.00 | 9.35 |
| | 2 | 5.00 | 20.00 | 7.00 | 3.00 | |
| | 3 | 6.00 | 19.00 | 3.00 | 3.00 | |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 | 8.00 | 18.00 | 4.00 | 5.00 | 8.08 |
| | 2 | 4.00 | 17.00 | 5.00 | 3.00 | |
| | 3 | 4.00 | 16.00 | 3.00 | 6.00 | |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 | 9.00 | 20.00 | 3.00 | 3.00 | 8.92 |
| | 2 | 8.00 | 18.00 | 3.00 | 8.00 | |
| | 3 | 7.00 | 18.00 | 5.00 | 6.00 | |
| Promedio de tratamientos | | 5.80 | 19.60 | 4.57 | 5.73 | PROMEDIO TOTAL = 8.95 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.64 | 4.27 | 1.49 | 1.95 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 28.30 | 21.79 | 31.94 | 33.96 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 337.93 | 80.45 | 98.85 | |
| Porcentaje de Potencia | | 29.59 | 100.00 | 23.81 | 29.25 | |

TABLA No. 13

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS
HEXANICO Y CLOROFORMICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L.
A DOSIS DE 175 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 critico | significancia |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------|-----------|---------------|
| Tratamientos | 3 | 1948.83 | 649.6103 | 46.75216 | 2.76 | $p < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 12.76667 | 3.191667 | 0.247721 | 2.53 | N.S. |
| Error | 32 | 722.4933 | 22.57807 | | | |
| TOTAL | 39 | 2684.85 | | | | |

TABLA No. 14

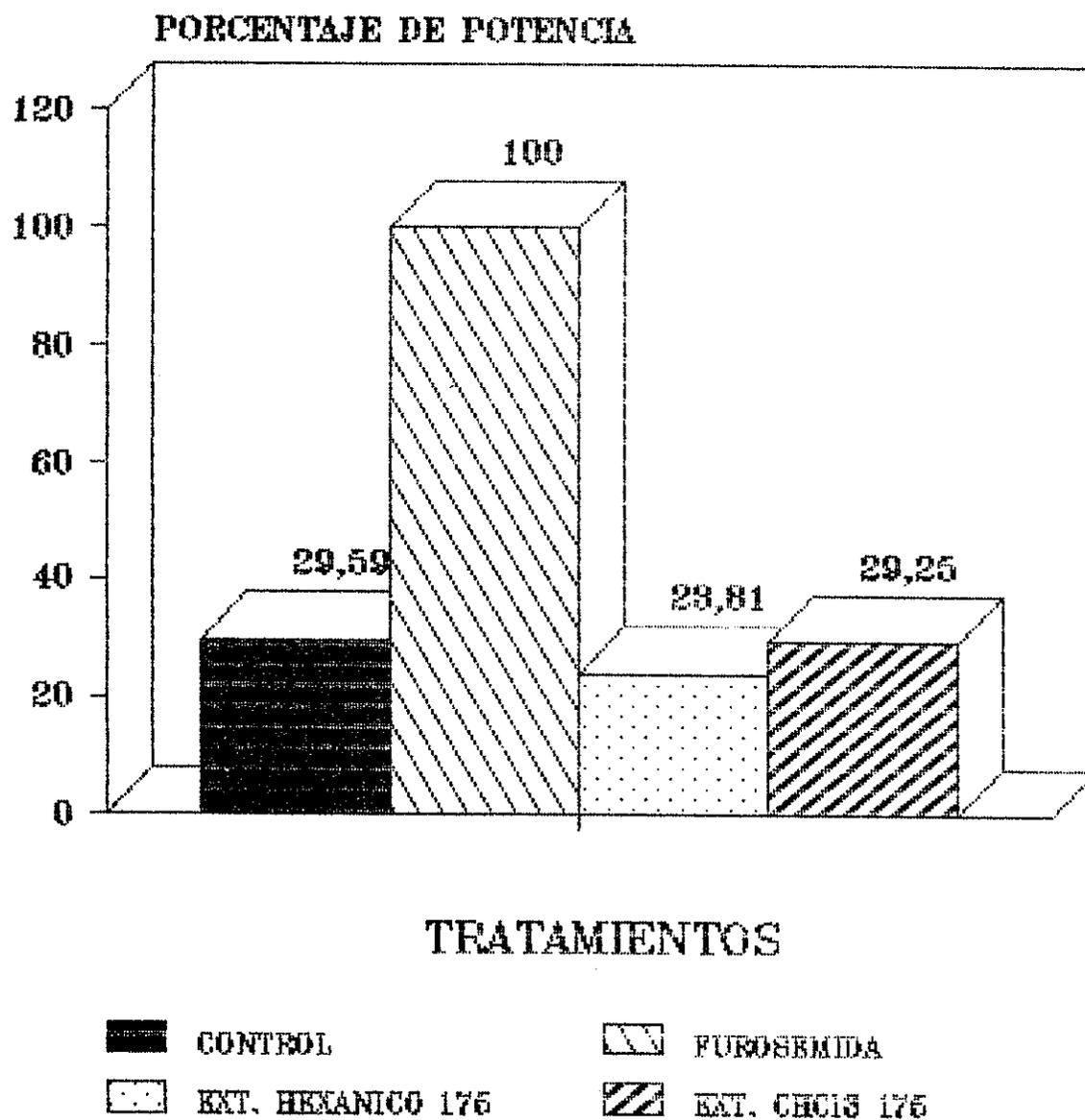
PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE
REFERENCIA (Furosemida) y EXTRACTOS HEXANICO Y CLOROFORMICO DE
FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 175 mg/Kg de peso.

| COMPARACIONES | $X_c - X_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|---|-------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemida | 13.8 | 3.361782 | Significativo |
| Control contra el Extracto hexánico 175 mg/Kg de peso | 1.133333 | 3.361782 | N.S. |
| Control contra el Extracto cloroformico 175 mg/Kg de peso | 0.066667 | 3.361782 | N.S. |

En el presente ensayo, sólo tiene actividad significativa la Furosemida. Los extractos hexánico y cloroformico son inactivos a dosis de 175 mg/Kg de peso.

GRAFICA No.4
EXTRACTOS HEXANICO Y CHCl3 DE FLOR DE
H. sabdariffa L. 175 mg/Kg peso



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

TABLA No. 15

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS
 CLOROFORMO:METANOLICO Y METANOLICO DE FLORES DE
Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 175 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 | Furosemida 20 mg/Kg | 175 mg/Kg | 175 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 2 3 | 8.00 8.00 7.00 | 14.00 12.00 18.00 | 10.00 9.00 12.00 | 7.00 8.00 4.00 | 9.25 |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 2 3 | 4.00 8.00 7.00 | 21.00 20.00 14.00 | 11.00 8.00 18.00 | 7.00 8.00 8.00 | 10.75 |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 2 3 | 8.00 7.00 8.00 | 15.00 22.00 20.00 | 11.00 9.00 18.00 | 8.00 8.00 8.00 | 10.92 |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 2 3 | 8.00 8.00 8.00 | 17.00 18.00 15.00 | 10.00 9.00 11.00 | 4.00 8.00 7.00 | 10.00 |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 2 3 | 4.00 8.00 8.00 | 18.00 18.00 15.00 | 10.00 11.00 13.00 | 8.00 4.00 10.00 | 9.67 |
| Promedio de tratamientos | | 8.20 | 18.80 | 11.13 | 6.33 | PROMEDIO TOTAL = 10.12 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.28 | 2.76 | 2.50 | 1.70 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 20.87 | 16.44 | 22.45 | 26.84 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 270.97 | 179.87 | 102.15 | |
| Porcentaje de Potencia | | 36.90 | 100.00 | 66.27 | 37.70 | |

TABLA No. 16

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTOS CLOROFORMO:METANOLICO Y METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 175 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 critico | significancia |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------|-----------|---------------|
| Tratamientos | 3 | 1076.017 | 358.6722 | 60.93736 | 2.76 | $p < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 24.10 | 6.025 | 1.023632 | 2.33 | N.S. |
| Error | 52 | 306.0667 | 5.885997 | | | |
| TOTAL | 59 | 1406.193 | | | | |

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

TABLA No. 17

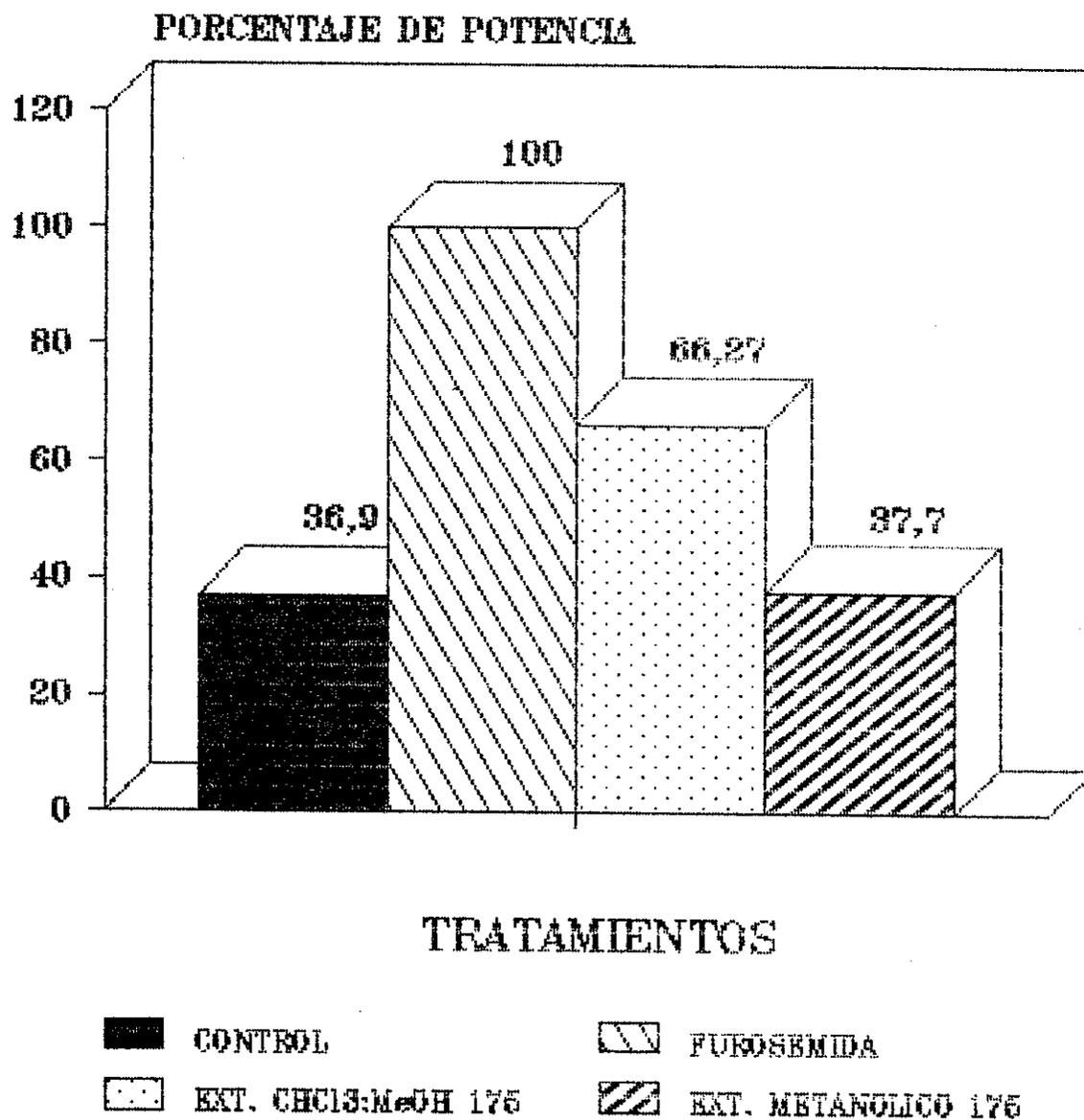
PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemda) y EXTRACTOS CLOROFORMO:METANOLICO Y METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L.
 A DOSIS DE 175 mg/Kg de peso.

| COMPARACIONES | $\bar{x}_c - \bar{x}_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|--|-------------------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemda | 10.6 | 2.188128 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 175 mg/Kg de peso | 4.933333 | 2.188128 | Significativo |
| Control contra el Extracto metanólico 175 mg/Kg de peso | 0.133333 | 2.188128 | N.S. |

En el presente ensayo, sólo tiene actividad significativa la Furosemda y el extracto cloroformo:metanólico a dosis de 175 mg/Kg de peso. El extracto metanólico es inactivo como diurético a dosis de 175 mg/kg de peso.

GRAFICA No.5
EXTRACTOS CHCl₃:MeOH Y MeOH DE FLOR DE
H. sabdariffa L. 175 mg/Kg peso.



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

TABLA No. 18

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO (9:1) 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 Cloroformo:metanólico (9:1) | Extracto Cloroformo:metanólico (9:1) | Promedio de Bloques (Días) |
|---|-------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| Días | Rata No. | Vehículo acuoso | Furosesida 25 mg/Kg | 175 mg/Kg | 201 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 2 3 | 5.00 5.00 5.00 | 19.00 18.00 10.00 | 11.00 5.00 9.00 | 30.00 27.00 20.00 | 13.92 |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 2 3 | 5.00 7.00 7.00 | 19.00 21.00 18.00 | 10.00 13.00 11.00 | 22.00 21.00 19.00 | 14.50 |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 2 3 | 9.00 5.00 6.00 | 18.00 14.00 17.00 | 15.00 22.00 23.00 | 17.00 18.00 16.00 | 15.00 |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 2 3 | 9.00 10.00 7.00 | 14.00 10.00 16.00 | 19.00 18.00 17.00 | 13.00 23.00 18.00 | 14.50 |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 2 3 | 8.00 9.00 9.00 | 23.00 19.00 20.00 | 22.00 21.00 22.00 | 19.00 21.00 24.00 | 18.08 |
| Promedio de tratamientos | | 7.27 | 17.07 | 15.93 | 20.53 | PROMEDIO TOTAL = 15.20 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.57 | 3.59 | 5.42 | 4.16 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 21.59 | 21.01 | 34.03 | 20.27 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 234.88 | 219.27 | 282.57 | |
| Porcentaje de Potencia | | 42.58 | 100.00 | 93.76 | 120.31 | |

TABLA No. 19

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa 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 critico | significancia |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------|-----------|---------------|
| Tratamientos | 3 | 1486.187 | 495.3856 | 34.64087 | 2.76 | $p < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 121.7667 | 32.94167 | 2.303488 | 2.53 | N.S. |
| Error | 52 | 743.6467 | 14.3009 | | | |
| TOTAL | 59 | 2351.6 | | | | |

TABLA No. 20

PRUEBA DE DUNNETT

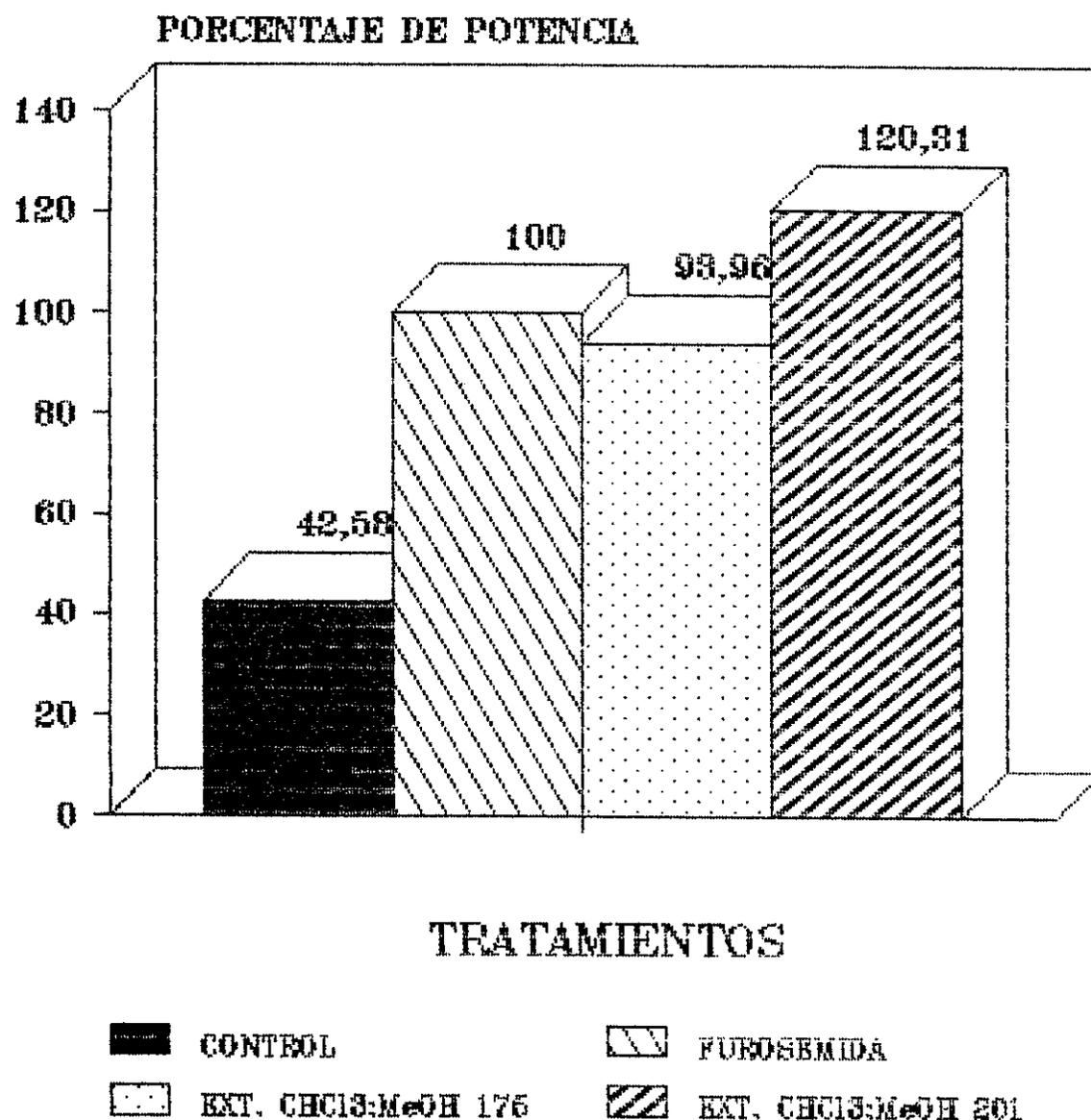
Comparación de tratamientos contra el Control.

Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemda) y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 175 y 201 mg/Kg de peso.

| COMPARACIONES | $X_c - X_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|--|-------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemda | 9.8 | 3.410735 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 175 mg/Kg de peso | 8.866667 | 3.410735 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 201 mg/Kg de peso | 13.26667 | 3.410735 | Significativo |

En el presente ensayo la furosemda y el extracto cloroformo:metanólico es activo a las dos dosis evaluadas.

GRAFICA No.6
EXTRACTO CHCl₃:MeOH DE FLORES DE
H. sabdariffa L. 175 Y 201 mg/Kg peso



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

TABLA No. 21

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO
 CLOROFORMO:METANOLICO (9:1) DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa 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 Cloroformo: metanólico (9:1) | Extracto Cloroformo: metanólico (9:1) | Promedio de Bloques (Días) |
|---|----------|-----------------|-----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| Días | Rate No. | Vehículo acuoso | Furosemida 25 mg/Kg | 132 mg/Kg | 152 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 | 7.00 | 20.00 | 12.00 | 22.00 | 16.50 |
| | 2 | 7.00 | 19.00 | 8.00 | 25.00 | |
| | 3 | 8.00 | 17.00 | 10.00 | 25.00 | |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 | 8.00 | 15.00 | 11.00 | 36.00 | 18.50 |
| | 2 | 9.00 | 19.00 | 15.00 | 32.00 | |
| | 3 | 4.00 | 22.00 | 17.00 | 34.00 | |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 | 8.00 | 27.00 | 17.00 | 28.00 | 18.23 |
| | 2 | 3.00 | 29.00 | 17.00 | 26.00 | |
| | 3 | 8.00 | 16.00 | 19.00 | 28.00 | |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 | 9.00 | 15.00 | 23.00 | 18.00 | 18.58 |
| | 2 | 7.00 | 22.00 | 32.00 | 19.00 | |
| | 3 | 9.00 | 23.00 | 25.00 | 25.00 | |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 | 4.00 | 20.00 | 17.00 | 23.00 | 15.92 |
| | 2 | 3.00 | 19.00 | 19.00 | 20.00 | |
| | 3 | 8.00 | 21.00 | 18.00 | 19.00 | |
| Promedio de tratamientos | | 6.20 | 20.27 | 17.33 | 26.47 | PROMEDIO TOTAL = 17.57 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 2.01 | 3.87 | 5.92 | 5.92 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 32.37 | 19.11 | 34.21 | 22.41 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 326.88 | 279.37 | 426.88 | |
| Porcentaje de Potencia | | 30.59 | 100.00 | 85.83 | 130.39 | |

TABLA No. 22

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO
 CLOROFORMO:METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L.
 A DOSIS DE 132 y 152 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 | 2539.587 | 1179.862 | 62.84846 | 2.76 | $p < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 75.29339 | 19.05933 | 1.031345 | 2.59 | N.S. |
| Error | 82 | 960.9133 | 18.4791 | | | |
| TOTAL | 89 | 4376.739 | | | | |

TABLA No. 23

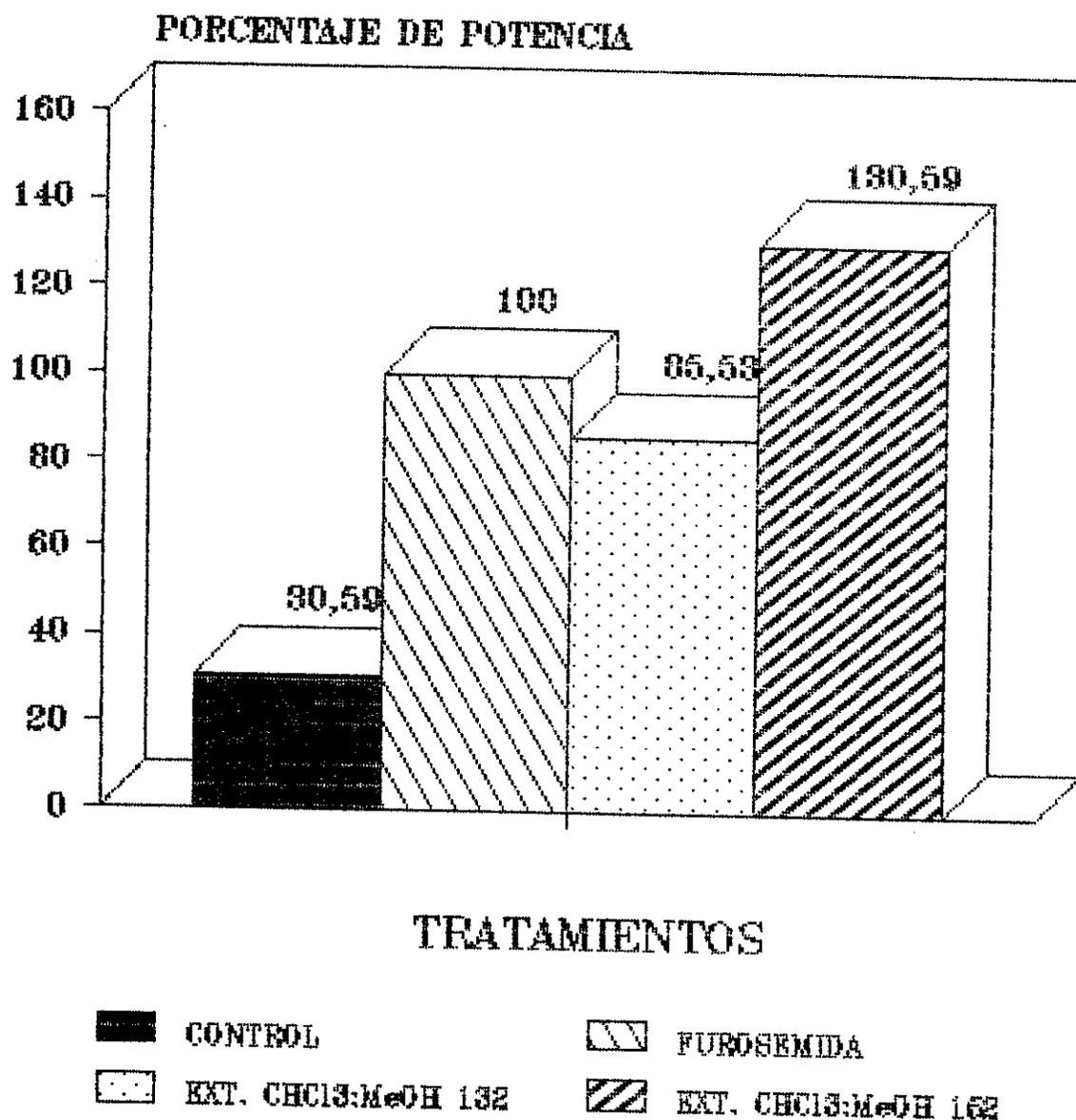
PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE
 REFERENCIA (Furosemida) y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO DE
 FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 132 y
 152 mg/Kg de peso.

| COMPARACIONES | $X_c - X_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|--|-------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemida | 14.06667 | 3.877098 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 132 mg/Kg de peso | 11.13333 | 3.877098 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 152 mg/Kg de peso | 20.26667 | 3.877098 | Significativo |

En el presente ensayo la furosemida y el extracto cloroformo:metanólico es activo a las dos dosis evaluadas.

GRAFICA No.7
EXTRACTO CHCl₃:MeOH DE FLORES DE
H. sabdariffa L. 132 Y 152 mg/Kg peso



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 21

TABLA No. 24

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO (9:1) DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa 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.

| BLOQUES | REPLICAS | Control | Fármaco de referencia | Extracto Cloroformo: metanólico (9:1) | Extracto Cloroformo: metanólico (9:1) | Promedio de Bloques (Días) |
|---|-------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| Días | Rata No. | Vehículo acuoso | Furosemida 25 mg/Kg | 100 mg/Kg | 115 mg/Kg | |
| Bloque 1 (Día 1) | 1 2 3 | 6.00 6.00 8.00 | 19.00 17.00 19.00 | 10.00 9.00 11.00 | 11.00 10.00 11.00 | 11.17 |
| Bloque 2 (Día 2) | 1 2 3 | 4.00 8.00 7.00 | 22.00 21.00 22.00 | 9.00 9.00 4.00 | 9.00 9.00 13.00 | 11.42 |
| Bloque 3 (Día 3) | 1 2 3 | 6.00 8.00 7.00 | 25.00 20.00 19.00 | 5.00 8.00 8.00 | 15.00 14.00 15.00 | 12.08 |
| Bloque 4 (Día 4) | 1 2 3 | 10.00 8.00 8.00 | 17.00 18.00 18.00 | 7.00 9.00 9.00 | 15.00 13.00 11.00 | 11.50 |
| Bloque 5 (Día 5) | 1 2 3 | 9.00 5.00 4.00 | 18.00 25.00 22.00 | 10.00 11.00 9.00 | 10.00 9.00 9.00 | 11.50 |
| Promedio de tratamientos | | 6.33 | 19.80 | 8.40 | 11.60 | PROMEDIO TOTAL = 11.52 |
| Desviación estándar de tratamientos | | 1.74 | 2.93 | 1.99 | 2.27 | |
| Coefficiente de Variación de tratamientos | | 27.45 | 14.78 | 23.73 | 19.61 | |
| Porcentaje de excreción | | 100.00 | 312.63 | 132.63 | 183.15 | |
| Porcentaje de Potencia | | 31.99 | 100.00 | 42.42 | 58.59 | |

TABLA No. 25

ANALISIS DE VARIANZA

TRATAMIENTOS: CONTROL, FARMACO DE REFERENCIA Y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 100 Y 115 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 | 1262.453 | 420.8176 | 35.2349 | 2.76 | $p < 0.05$ |
| Bloques | 4 | 3.423233 | 1.358233 | 0.11273 | 2.33 | N.S. |
| Error | 52 | 621.0467 | 11.94321 | | | |
| TOTAL | 59 | 1886.933 | | | | |

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

TABLA No. 26

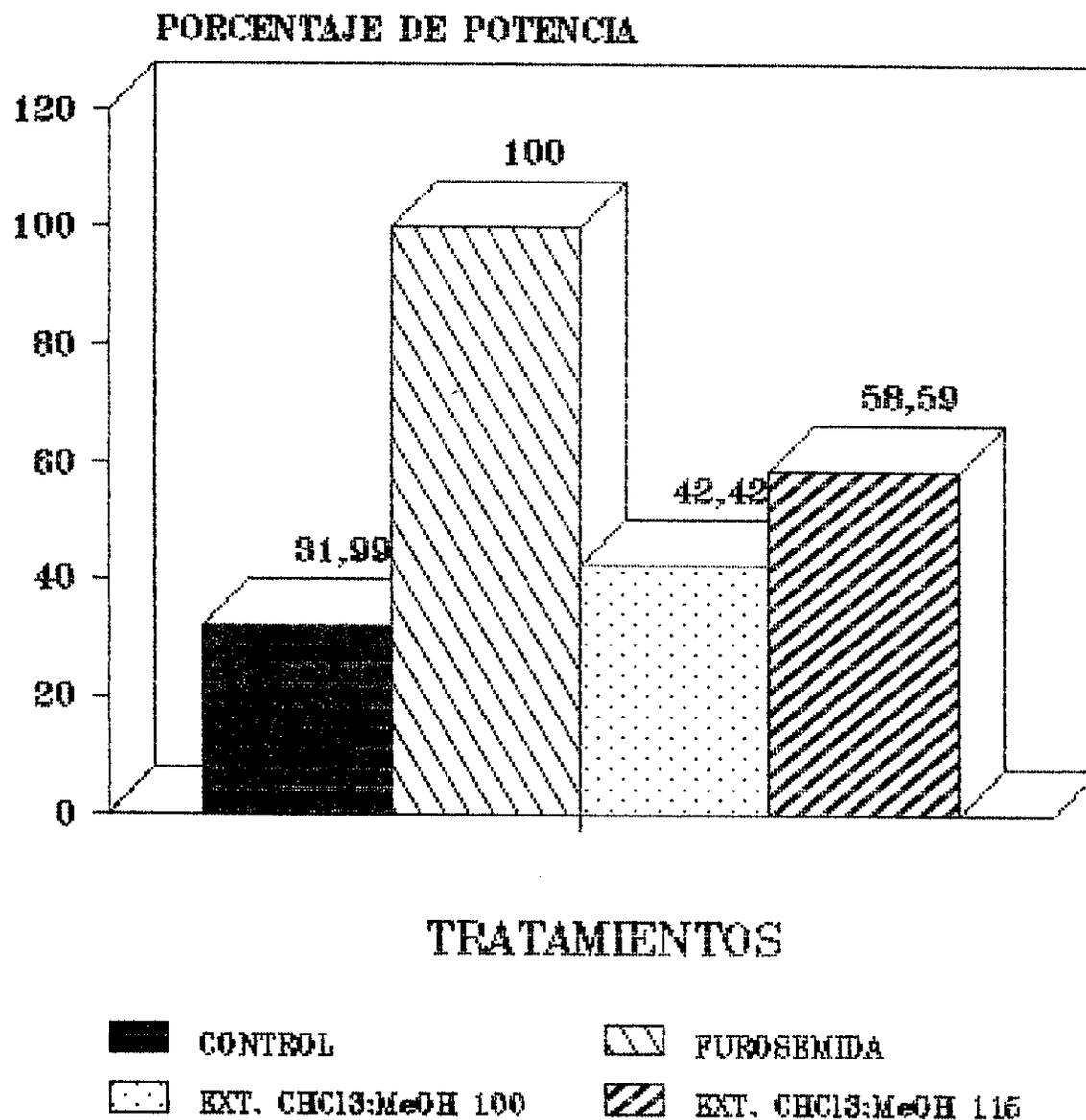
PRUEBA DE DUNNETT

Comparación de tratamientos contra el Control.
 Tratamiento a comparar contra el control: FARMACO DE REFERENCIA (Furosemida) y EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO DE FLORES DE Hibiscus sabdariffa L. A DOSIS DE 100 Y 115 mg/Kg de peso.

| COMPARACIONES | $X_c - X_i$ | Diferencia crítica DUNNETT | Nivel de significancia |
|--|-------------|----------------------------|------------------------|
| Control contra Furosemida | 13.46667 | 3.116928 | Significativo |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 100 mg/Kg de peso | 2.066667 | 3.116928 | N.S. |
| Control contra el Extracto cloroformo:metanólico 115 mg/Kg de peso | 3.266667 | 3.116928 | Significativo |

En el presente ensayo, el extracto cloroformo:metanólico es activo a la dosis de 115 mg/kg de peso y es inactivo a la dosis de 100 mg/kg de peso.

GRAFICA No.8
EXTRACTO CHCl₃:MeOH DE FLORES DE
H. sabdariffa L. 100 Y 115 mg/Kg peso



Fuente: Valores promedio de la variable de respuesta. Tabla 24

8.2.2. CARACTERIZACION FITOQUIMICA:

A continuación se presentan las tablas con los resultados del tamizaje macro y semimicro:

TABLA No. 27

INVESTIGACION DE ALCALOIDES

Extracto Clorofórmico:metanólico (9:1)

de flores de Hibiscus sabdariffa L.

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

TABLA No. 28

INVESTIGACION DE FLAVONOIDES

Extracto Cloroformo:metanólico (9:1)

de flores de Hibiscus sabdariffa L.

| Tubo No. | Reactivo de Prueba | Resultado |
|----------|--------------------|------------|
| 1 | Ninguno | Testigo |
| 2 | Test de Shibata | Rojo tenue |
| 3 | H_2SO_4 | Amarillo |
| 4 | $FeCl_4$ 10% | Verde |

TABLA No. 29

Cromatografía en Capa Fina

Extracto Cloroformo metanólico 9:1 de flores de Hibiscus sabdariffa L.

Fase Móvil: Cloroformo-metanol-agua (80:18:2)

| MEDIO VISUALIZADOR | | | | | | | |
|--------------------|-------------|-----------|-----------|--------------------|-------------|-------------------|-------------------|
| Medios Físicos | | | | Agentes cromógenos | | | |
| Rf | Luz visible | UV 254 nm | UV 365 nm | Anisaldehído | Dragendorff | FeCl ₃ | CeSO ₄ |
| 0.98 | | | | | | | amarillo |
| 0.92 | | | | café | | | |
| 0.86 | | | | | | | amarillo |
| 0.79 | | | | café | | | |
| 0.75 | | | | café claro | | | |
| 0.74 | | | celeste | | | | |
| 0.73 | | | | café | | gris | |
| 0.72 | amarillo | café | | | | | café |
| 0.70 | | café | | | | | |
| 0.66 | | café | | | | | |
| 0.24 | | | | | | azul grisáceo | |

8.2.3. ENSAYO TOXICOLOGICO:

Se evaluó la Dosis Letal Media (DL_{50}) del extracto clorofórmico metanólico 9:1 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, 320 mg de extracto/kg de peso. No se observó tampoco muerte alguna en ninguno de los lotes de los animales de experimentación. Por lo tanto la DL_{50} es mayor de 320 mg/Kg de peso para el extracto evaluado.

9. DISCUSION

9.1. FARMACOLOGIA EXPERIMENTAL

9.1.1. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DIURETICA:

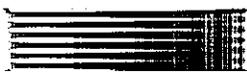
9.1.1.1. EXTRACTOS INACTIVOS:

9.1.1.1.1. Extracto Hexánico:

Los resultados obtenidos demuestran que este extracto no posee actividad diurética a dosis de 201 y 175 mg/kg de peso (Tablas Nos. 3-5, 12-14, Gráficas Nos. 1,4). La resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto son menores a la diferencia crítica DUNNETT, por lo que los resultados no demuestran actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto hexánico, el mismo, debía cuando menos, tener un 40% de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de DUNNETT y ANDEVA 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.

9.1.1.1.2. Extracto Acuoso:

Los resultados obtenidos demuestran que este extracto a las dosis de 201 y 175 mg/kg de peso no posee actividad diurética significativa (Tablas Nos. 9-11, Gráfica No. 3). La resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto son menores a 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 45% de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de DUNNETT y ANDEVA 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.

9.1.1.2. EXTRACTOS ACTIVOS:

9.1.1.2.1. Extracto Clorofórmico:

Los resultados demuestran que dicho extracto posee actividad diurética a dosis de 201 mg/kg de peso. Pues la resta de los promedios del área bajo la curva del control menos el extracto es mayor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado demuestra actividad diurética significativa. Este resultado demuestra que para considerar diurético al extracto clorofórmico a 201 mg/kg de peso, el mismo, tuvo que tener más del 40% de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas), (tablas Nos. 3-5, Gráfica No. 1). Los resultados demuestran que dicho extracto no posee actividad diurética a dosis de 175 mg/kg de peso. La resta de los promedios del área bajo la curva del control menos el extracto es menor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado no demuestra actividad diurética significativa. Este resultado demuestra que para considerar el extracto clorofórmico a 175 mg/kg de peso, el mismo, debía cuando menos, tener un 30% de la actividad

diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas), (Tablas Nos. 12-14, Gráfica No. 4). Se puede inferir que por cosolubilidad en el extracto clorofórmico se extrajeron pequeñas cantidades del compuesto responsable de la actividad diurética, que se encuentra en el extracto cloroformo:metanólico (9:1). Por lo anterior se descartó la posibilidad de experimentación a dosis menores de 175 mg/kg de peso.

9.1.1.2.2. Extracto Metanólico:

Los resultados obtenidos demuestran que dada la proximidad del valor de la diferencia entre el promedio del área bajo la curva del grupo control y el promedio del área bajo la curva del extracto metanólico a dosis de 201 mg/kg de peso con respecto al valor Dunnett crítico, se concluye que la actividad diurética del extracto metanólico es dudoso (Tablas Nos. 6-8, Gráfica No. 2). Por lo que al observar los resultados a la dosis de 175 mg/kg de peso (Tablas Nos. 15-17, Gráfica No. 5), se confirma que no tiene actividad diurética, pues la resta de los promedios del área bajo la curva del control menos el extracto es menor que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que el resultado no demuestra actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto metanólico, el mismo, debía cuando menos, tener un 40% de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Se puede inferir que por cosolubilidad en el extracto metanólico se extrajeron

pequeñas cantidades del compuesto responsable de la actividad diurética, que se encuentra en el extracto cloroformo:metanólico (9:1). Por lo anterior se descartó la posibilidad de experimentación a dosis menores de 175 mg/kg de peso.

9.1.1.2.3. Extracto Cloroformo:metanólico (9:1):

Los resultados obtenidos demuestran que este extracto posee actividad diurética a dosis de 201 mg/kg de peso (Tablas Nos. 6-8, Gráfica No. 2) y 175 mg/kg de peso (Tablas Nos. 15-17, Gráfica No. 5). Ambas dosis tiene un valor mayor a la diferencia crítica DUNNETT como resultado de la resta de los promedios de las áreas bajo la curva del control menos el extracto, por lo que los resultados demuestran actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto cloroformo:metanólico (9:1), el mismo, tuvo que tener más de un 49% para 201 mg/kg de peso y más de un 40% para 175 mg/kg de peso, de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de DUNNETT y ANDEVA realizadas). Por los resultados obtenidos de los extractos hexánico, clorofórmico, metanólico y acuoso, se decidió reconfirmar las dosis evaluadas junto con las dosis restantes dentro de un mismo diseño experimental. Obteniéndose una actividad diurética significativa a dosis de 201, 175 (Tablas Nos. 18-20, Gráfica No. 6), 152, 132 (Tablas Nos. 21-23, Gráfica No. 7) y 115 mg/kg de peso (Tablas Nos. 24-26, Gráfica No. 8). Las restas de los promedios de las área bajo la curva son mayores que la diferencia crítica DUNNETT, por lo que los resultados

RECEIVED
BIBLIOTECA



demuestran actividad diurética significativa. Los resultados demuestran que para considerar diurético al extracto cloroformo:metanólico (9:1) a dosis de 201 y 175 mg/kg de peso, tuvieron que tener más del 45% de la actividad diurética de la furosemida, a dosis de 152 y 132 mg/kg de peso, tuvieron que tener más del 35 % de la actividad diurética de la furosemida y a dosis de 115 mg/kg de peso, tuvo que tener más del 45% de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas). Los resultados demuestran que no posee ninguna actividad diurética a dosis de 100 mg/kg de peso (Tablas Nos. 24-26, Gráfica No. 8). La resta de los promedios del área 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 diurética al extracto a dosis de 100 mg/kg de peso, el mismo, debía cuando menos, tener un 45% de la actividad diurética de la furosemida (conforme a las pruebas de ANDEVA y DUNNETT realizadas).

9.2. TAMIZAJE FITOQUIMICO DEL EXTRACTO CLOROFORMO:METANOLICO (9:1).

9.2.2. ENSAYOS MACRO Y SEMIMICRO:

9.2.2.1. Investigación de Alcaloides (Tabla No. 27):

Los resultados demuestran que no hay evidencia de la presencia de alcaloides para el extracto cloroformo:metanólico (9:1), con actividad diurética.



9.2.2.2. Investigación de Flavonoides (Tabla No. 28):

Los resultados demuestran la presencia de compuestos flavonoidales en todas las pruebas para el extracto cloroformo:metanólico (9:1) que resultó ser activo como diurético.

9.2.3. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA (Tabla No. 29):

El compuesto fluorescente a 365 nm con Rf 0.74 podría corresponder a un compuesto del tipo fenilpropano con al menos dos dobles enlaces conjugados. El compuesto con Rf 0.24 podría ser considerado como un compuesto polifenólicos o un ácido orgánico con al menos dos dobles enlaces conjugados. El extracto cloroformo:metanólico (9:1) no tuvo una buena separación en la fase móvil: Butanol-ácido acético-agua (65:15:25), por lo que no se describieron los resultados de este.

9.3. ENSAYO TOXICOLOGICO:

Dado que no se observaron cambios en el comportamiento ni muerte en los animales de experimentación, se infiere que el extracto cloroformo:metanólico (9:1), no es tóxico a dosis menores de 320 mg/kg de peso.

10. CONCLUSIONES

10.1. El extracto cloroformo:metanólico (9:1) de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) posee actividad diurética significativa a dosis de 115, 132, 152, 175 y 201 mg/kg de peso.

10.2. Los extractos clorofórmico y metanólico de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) posee actividad diurética significativa sólo a dosis de 201 mg/kg de peso.

10.3. Los extractos hexánico y acuoso de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) no tienen actividad diurética significativa a ninguna de las dosis ensayadas.

10.4. El extracto cloroformo:metanólico (9:1) (Rosa de jamaica) contiene en mayor proporción al principal principio activo responsable de la actividad diurética.

10.5. El extracto cloroformo:metanólico (9:1) de flores de Hibiscus sabdariffa L., posee una evidencia preliminar de la presencia de compuestos del tipo fenilpropano (cumarinas y/o flavonoides), polifenoles y/o ácidos orgánicos.

10.6. El extracto cloroformo:metanólico (9:1) evaluado, no es tóxico a dosis menores de 320 mg/kg de peso.

11. RECOMENDACIONES

11.1. Realizar el fraccionamiento cromatográfico (Fase III) del extracto cloroformo:metanólico (9:1) de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) hasta aislar el principal principio activo responsable de la actividad diurética.

11.2. Realizar estudios de actividad uricosúrica con el extracto cloroformo:metanólico (9:1) de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica).

11.3. Realizar estudios de actividad antiinflamatoria de Fase I y II de flores de Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica).

12. REFERENCIAS

- 12.1. Vásquez Corado, Edith Josefina. Evaluación de la Actividad Diurética In Vivo de Hibiscus sabdariffa L (Rosa de Jamaica) distribuida por centros naturistas de la ciudad de Guatemala. Guatemala: Escuela de Química Farmacéutica. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. USAC. Tesis Q.F. Octubre, 1990. pp. 4-5, 50.
- 12.2. Naik VR, Agskikar NV, Abraham GJ. Cucumis trigonus Roxb. II Diuretic Activity. J. Ethnopharmacol. 1981. pp. 15-19.
- 12.3. Spearman, G. y Karber, D.J. Finner statical method in Biological assay. London: CH. Griffin and Co., 1952. 524 pp.
- 12.4. Ciulei, I. Practical Manuals on the industrial utilization of Medicinal Plants. Methodology for analysis of vegetable drugs. Bucarest: Fac. of Pharmacy, 1982. 72 pp.
- 12.5. Gillet Scheel, Vivian Doris. Fraccionamiento del extracto alcohólico de la Rosa de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L) para determinar la fracción responsable de la Acción diurética y uricosúrica. Guatemala: Escuela de Química Farmacéutica. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. USAC. Tesis Q.F. Octubre, 1986. pp. 55.
- 12.6. Fichas Populares sobre Plantas Medicinales. 1a. Serie (Nos. 1-40), 2da edición Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropiada (CEMAT) y Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA, S.A. Guatemala. Diciembre, 1990. pp 131-134.
- 12.7. Varios autores. Especies Vegetales de Uso Actual y Potencial en Alimentación y Medicina de las Zonas Semiáridas del Nororiente de Guatemala. Cuadernos de Investigación. Dirección General de Investigación (DIGI). USAC.
- 12.8. Propuesta Coguanor NGO 6 070;89. Productos Fitoterapéuticos. Rosa de Jamaica para té o infusión. Especificaciones. Septiembre. 1989. pp. 3-8.
- 12.9. Duke, J.A. & Atchley, A.A. Handbook of Proximate Analysis Tables of Higher Plants. Boca Ratón, CRC Press, 1986. pp. 84.
- 12.10. Ayensu, E.S. Medicinal Plants of the West Indies. Algonac Reference Publications. 1981. pp. 120.
- 12.11. Ali, W.M. et al., Investigation of the Antispasmodic Potential of Hibiscus sabdariffa calyces. Journal of Ethnopharmacology, 31 (1991). Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd. pp. 249-257

- 12.12. Miller, B. and Franz, G. Chemical Structure and Biological Activity of Polysaccharides from Hibiscus sabdariffa. Plant Med. 58 (1992). pp. 60-67.
- 12.13. Owolabi, O.A., et al. Mechanism of Relaxant Effect mediated by an aqueous extract of Hibiscus sabdariffa Petals in Isolated Rat Aorta. International Journal of Phamacognosy. 1995, Vol. 33, No. 3, pp.210-214.
- 12.14. Ali, W.M., et al. An Oestrogen-like Activity of Hibiscus sabdariffa. Fitoterapia. Vol LX, No. 6, 1989.
- 12.15. Duke, J.A. Handbook of Medicinal Herbs. Boca Ratón, CRC Press, 1985. pp. 228-229.
- 12.16. Standley, P. and Steyermark, J. Flora of Guatemala. Part IV. Chicago Natural History Museum. December, 1949. pp. 351-352.
- 12.17. Guzmán, David J. Especies Utiles de la Flora Salvadoreña. San Salvador. Ministerio de Educación. 1975. pp. 700-701.
- 12.18. Martínez, Maximino. Plantas Utiles de la Flora Mexicana. Ediciones Botas. México, 1959. pp. 254-255.
- 12.19. Williams, L. O. The Useful Plants of Central America. Ceiba, 24. 1981. pp. 3-342.
- 12.20. Manual de Técnicas de Investigación CYTED-Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo. 1995. pp. 49-50, 226.
- 12.21. Goodman, A., et al. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Octava edición. Editorial Médica Panamericana. México, 1993. pp. 1751.

INDICE DE ANEXOS

| | Pag. |
|---|------|
| ANEXO 13.1. Identificación Botánica de <u>Hibiscus sabdariffa</u> L. | 61 |
| ANEXO 13.2. Nombres comunes de <u>Hibiscus sabdariffa</u> L. | 61 |
| ANEXO 13.3. Origen y distribución de <u>Hibiscus sabdariffa</u> L. | 62 |
| ANEXO 13.4. Descripción de la especie de <u>Hibiscus sabdariffa</u> L. | 62 |
| ANEXO 13.5. Dibujo de la planta <u>Hibiscus sabdariffa</u> L. | 63 |
| ANEXO 13.6. Farmacología sobre Furosemida..... | 64 |

13. ANEXO

13.1. IDENTIFICACION BOTANICA. (1,5)

CLASE: MONOCOTILEDONEA
SUBCLASE: DIAPETALA
ORDEN: COLUMNIFERAE
FAMILIA: MALVACEA
GENERO: HIBISCUS
ESPECIE: SABDARIFFA
NOMBRE COMUN: ROSA DE JAMAICA

13.2. NOMBRES COMUNES DE
Hibiscus sabdariffa (Rosa de Jamaica)
(6-8, 10, 15-19)

JAMAICA

ROSELLE

ACEDERA COLORADA

AGRIO DEGUINEA

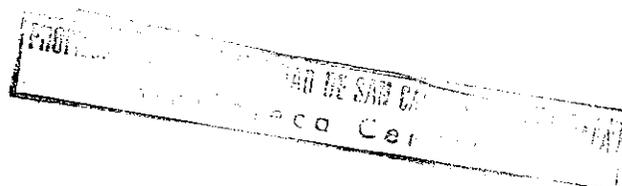
CANAMO DE ROSELLA

HUARAXAN

SOON

SORREL

KARKADE



13.3. ORIGEN Y DISTRIBUCION

Nativa de la India Oriental, pero ahora crece en la mayoría de regiones tropicales y subtropicales, algunas veces naturalizada como maleza en América Tropical. En Guatemala es frecuente su cultivo en tierras bajas.

En Guatemala la planta se ha encontrado más o menos silvestre en Puerto Barrios, Ipala (Chiquimula), Estancia Grande (Guatemala y Ocos (San Marcos). Es cultivada en algunas partes de El Progreso y Baja Verapaz (7).

13.4. DESCRIPCION DE LA ESPECIE

Hierba semileñosa anual, erecta, usualmente de 1-2 mts. de alto, ocasionalmente sufrutescente, la corteza del tallo de color rojo, glabra. Las hojas en largos o cortos pecíolos, glabras, con nervaciones rojas, de 3-5 lóbulos, casi a la base, los lóbulos angostos aserrados, la costa (nervadura central), portando una glándula grande cerca de la base en el envés.

Las flores son brácteolas unidas con el cáliz, acrescentes en la fructificación y formando una carnosa copa grande, de color rojo oscuro; pedúnculos muy cortos. Los cálices en la flor cerca de 2 cms. de largo y en número de 5. Los pétalos de 4-5 cms de largo, de color amarillo pálido y en número de 5; estambres numerosos y con ovario superior con 5 carpelos cerrados, placentación axial, con varias semillas. Los frutos son una cápsula densamente estrigosa, más corta que el cáliz. Las semillas son puberulentas (7).

13.5. DIBUJO DE LA PLANTA

Hibiscus sabdariffa L. (Rosa de jamaica) (8).



13.6. FARMACOLOGIA SOBRE FUROSEMIDA. (21)

13.6.1. FUROSEMIDA:

Diurético de techo alto o diurético del asa, derivado del ácido antranílico. Tiene acción característica sobre la función tubular renal.

13.6.2. ACCION DIURETICA:

Actúa principalmente inhibiendo la reabsorción de electrolitos en la rama ascendente gruesa del asa de Henle. Actúa sobre la cara luminal de las células epiteliales para inhibir el mecanismo de cotransporte de $\text{N}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$.

13.6.3. TOXICIDAD:

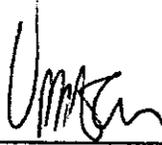
Anormalidades del equilibrio líquido y electrolitos. La hiperuricemia es relativamente común. Los efectos secundarios no relacionados con la acción primaria de este agente son muy raros. Alteraciones gastrointestinales (con o sin hemorragia), depresión de los elementos formes de la sangre, erupciones cutáneas, parestesias y disfunción hepática. Puede ocurrir una sensibilidad cruzada entre furosemida y otras sulfonamidas. Nefritis intersticial alérgica que lleva a insuficiencia renal reversible. No debe prescribirse durante el embarazo a menos que sea absolutamente necesario. La ototoxicidad es exclusiva de esta clase de agentes. Interacciona con agentes como warfarina y clofibrato. Con cefalosporinas se incrementa la nefrotoxicidad.

13.6.4. USOS:

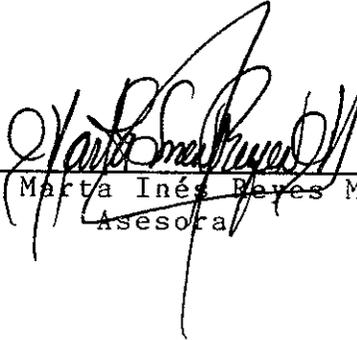
Es efectivo para el tratamiento del edema de origen cardíaco, hepático o renal. Para el edema refractario puede usarse junto con diuréticos como tiazida o un agente ahorrador de potasio.

13.6.5. CONTRAINDICACIONES:

En insuficiencia renal anúrica, hipercalcemia sintomática.



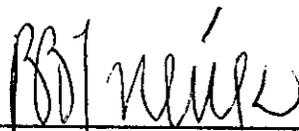
Vivian Margarita Sánchez Garrido
Autora



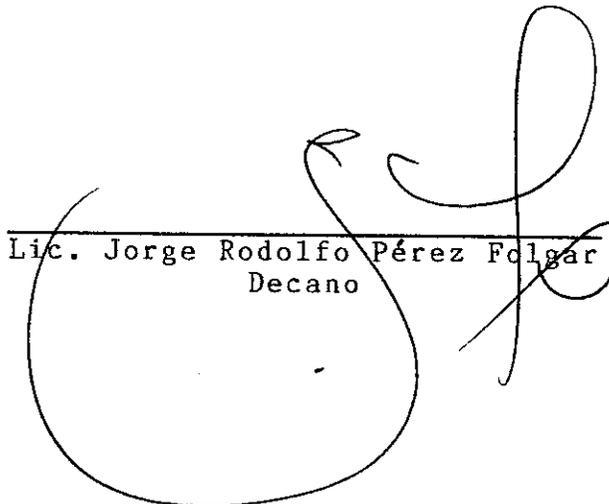
Licda. Marta Inés Reyes Mayén
Asesora



Mynor Rolando Hernández Espina
Asesor



Licda. Beatriz Batres de Jiménez
Directora



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano