

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA



**Efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana*
(achiote) en ratas.**

Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico

Autor:

Lícito Tarazona Daniel Carlos

Méndez Rodríguez Francisco Javier

Asesor

Dra. Torres Solano Carol Giovanna

Código ORCID: 0000-0002-2313-3039

HUARAZ – PERÚ

2021

i.- clave

Tema	Fitoterapia
Especialidad	Diuresis

Keywords

Subject	Phytotherapy
Speciality	Diuresis

Linea de investigación	Medicina Humana
Área	Ciencias médicas y de la salud
Subárea	Medicina basica
Disciplina	Farmacología y farmacia

ii.- Título:

Efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

iii.- Resumen

La presente investigación tuvo como objetivos evaluar el diurético del extracto acuoso de las hjas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas. El estudio fue preclínico y se desarrolló en el laboratorio de Farmacología de la Escuela de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Medicina Humana. Universidad San Pedro, Chimbote, Perú. Para lo cual se utilizó 36 ratas albinas Cepa Holtzman donde todos recibieron NaCl 0.9% 25 mL/kg, luego de 30 min los animales fueron separados en seis grupos de seis ratas cada una, y se procedió a la administración de los tratamientos siguientes: 1° grupo SSF 2mL/Kg, 2° furosemida 10 mg/kg, el 3° hidroclorotiazida 200 mg/Kg y el 4°, 5° y 6° recibieron extracto en dosis de 50, 250 y 500 mg/kg respectivamente. El extracto acuoso evidenció la presencia de presencia de carbohidratos, azúcares reductores y taninos en abundante cantidad, aminoácidos libres, flavonoides, alcaloides y glicósidos en regular cantidad, heterósidos antraquinónicos y esteroides triterpénicos en poca cantidad; así mismo a una dosis de 500 mg/kg tiene mayor volumen promedio de orina (4,87 mL), demostrando ser dosis dependiente así mismo los valores promedios de furosemida fueron de 16,68 mL y el de hidroclorotiazida de 14,00 mL, encontrándose que a una dosis de 500 mg/Kg presenta el mayor porcentaje de excreción urinaria de 19,48% frente a furosemida de 66,72% e hidroclorotiazida al 56,00 %. Así mismo el extracto a dosis de 500 mg/Kg evidencia mayor porcentajes de actividad diurética con el estándar farmacológico furosemida 29,20%, y con el estándar hidroclorotiazida de 34,79%. Concluyendo que el extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas, posee efecto diurético.

Palabras clave: Diuresis, extracto acuoso, *Bixa orellana*, achiote.

iv.- Abstract

The present investigation aimed to evaluate the diuretic of the aqueous extract of the *Bixa orellana* (achiote) leaves in rats. The one study was preclinical and was developed in the Pharmacology laboratory of the School of Pharmacy and Biochemistry, Faculty of Human Medicine. San Pedro University, Chimbote, Peru. For which 36 Holtzman strain albino rats were used where all received 0.9% NaCl 25 mL / kg, after 30 min the animals were separated into six groups of six rats each, and the following treatments were administered: 1 SSF group 2mL / Kg, 2nd furosemide 10 mg / kg, 3rd hydrochlorothiazide 200 mg / Kg and 4th, 5th and 6th received extract in doses of 50, 250 and 500 mg / kg respectively. aqueous extract evidenced the presence of carbohydrates, reducing sugars and tannins in abundant quantity, free amino acids, flavonoids, alkaloids and glycosides in regular quantity, anthraquinone heterosides and triterpenic steroids in small quantity; Likewise, at a dose of 500 mg / kg, it has a higher average volume of urine (4.87 mL), proving to be dose dependent, likewise the average values of furosemide were 16.68 mL and that of hydrochlorothiazide was 14.00 mL, finding that at a dose of 500 mg / Kg it presents the highest percentage of urinary excretion of 19.48% compared to furosemide of 66.72% and hydrochlorothiazide of 56.00%. Likewise, the extract at a dose of 500 mg / Kg shows higher percentages of diuretic activity with the pharmacological standard furosemide 29.20%, and with the hydrochlorothiazide standard of 34.79%. Concluding that the aqueous extract of the leaves of *Bixa orellana* (achiote) in rats, has a diuretic effect.

Keywords: Diuresis, aqueous extract, *Bixa orellana*, achiote.

INDICE	Pag
Palabras clave.....	i
Título de la investigación.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	i.v
Índice	v
Introducción.....	1
Antecedentes y fundamentación científica.....	1
Justificación de la investigación.....	13
Problema	16
Marco Referencial.....	16
Hipótesis.....	27
Objetivos.....	28
Metodología.....	29
Tipo y Diseño de investigación.....	29
Población – Muestra.....	29
Técnicas e instrumentos de investigación.....	30
Resultados.....	34
Análisis y Discusión.....	38
Conclusiones.....	41
Recomendaciones.....	42
Agradecimientos.....	43
Referencias Bibliográficas.....	44
Anexos.....	54

I. Introducción

1.1. Antecedentes y fundamentación científica.

Ríos Bermeo (2018), busó determinar la afinidad del colorante natural Achiote al 5% (Bixa orellana) como alternativa a la eosina en la tinción con hematoxilina-eosina en tejido hepático de oveja. El tinte se obtuvo del Instituto de Química y Ciencias Dinámicas de la Universidad Nacional de Cajamarca. Se utilizaron muestras de hígado de 10 ovejas sacrificadas en Camal Municipal de Cajamarca. Los resultados mostraron que la calidad de la tinción era baja y no se observó ningún contraste entre las estructuras celulares. El estroma, el parénquima hepático y los vasos sanguíneos del hígado de oveja no tienen afinidad por el pigmento de Bixa orellana (Achiote) al 5%, todos son azules y solo por el pigmento de hematoxilina. El uso de Bixa orellana (Achiote) al 5% como alternativa a la eosina en técnicas de tinción con hematoxilina-eosina en tejido de hígado de oveja no mostró afinidad por el colorante.

Bejar (2017). Buscó mostrar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de Bixa orellana L. Para la elección de la designación hipoglucemiante se usó el método reseñado por Arroyo J., está demostrado en la medición de los niveles de glucosa en sangre mg/dL incitado con aloxano en ratas de cepa Holtzman. Se manejaron 48 ratas albinas de cepa Holtzman entre 150 a 200 gramos de peso, las cuales fueron distribuidas en 6 grupos al azar.

Viteri (2018). Encontró que las concentraciones de 75% y 100% de extracto metanólico de hojas de Bixa orellana mostraron una baja proporción de unidades formativas de *Candida albicans* cepa ATCC 10231 (0 UFC / ml) en las incubaciones de 24 y 48 horas. Cuando se establece la actividad anti fúngica del extracto de hoja de Bixa a concentraciones de 25,75 y 100% en una lámina acrílica que contiene *Candida albicans* ATCC 10231.

Camacaro (2018). propuso un color liposoluble para el negocio de la alimentación de la Bixa Orellana L. o bien conocido como achiote mediante una extracción con la utilización de un soluble. Se consideraron los atributos de suciedad de las plantas de onoto de la localidad El Pernal, Tinaquillo, estado Cojedes, elegidas para el examen actual. Los disolventes, por ejemplo, etanol, n-hexano, derivación del ácido etil acético e hidróxido de potasio, se evaluaron como especialistas en drenaje de bixina, con la ayuda de una prueba de normas con la que trabajó la industria alimentaria y con la utilización de hardware de luz UV aparente Se rastreó que el KOH al 2% era el increíble extractor soluble debido a su gasto mínimo, bajo grado de nocividad y alto rendimiento. Las pruebas de extracción se realizaron en semillas de onoto a escala de laboratorio donde se examinaron factores como la proporción de soluto y cantidad soluble, el tiempo de rociado, la inquietud y, por lo tanto, los pasos resultantes como el equilibrio y precipitación de bixina, el tamizado al vacío y el secado. al broiler y capacidad, donde se resolvió la ejecución de extracción.

Ambar (2019). Evaluó la intoxicación oral en porciones repetidas durante 30 días del concentrado etanólico de las hojas de Bixa orellana (achiote) en roedores Las plantas fueron recolectadas en la localidad de Cascajal, comarca de Santa, rama de Ancash, la prueba reconocible ordenada se hizo en el sala de exposiciones de historia normal de la UNMSM Lima-Perú, se obtuvo el concentrado y hecho el estudio fitoquímico rastreó una gran cantidad de taninos y flavonoides; Se espera que el concentrado no influya en el desarrollo o peso del roedores, al igual que sin modificaciones en los límites bioquímicos de la sangre. Inferir que el concentrado etanólico de las hojas de Bixa orellana (achiote) administrado por vía oral durante 30 días en roedores no es dañino.

Nasimba (2019). Buscó mostrar que el color separado de Bixa orellana L. (achiote), puede suplantar colores manufacturados en estructuras fluidas de fármacos, para esto, se hicieron 2 grumos de 24 jarabes de acetaminofén cada uno, los cuales se embutieron en 2 tipos de materiales de atado. 1 paquete en portavasos

y 1 parte en compartimentos de polietileno de alto espesor. Se realizó un estudio de solidez durante 90 días, presentando los grupos a varias temperaturas y humedad relativa constante. Hacia el final del examen, se resolvió el impacto de la temperatura y el material del compartimento sobre la energía de degradación del acetaminofén. Utilizando la estrategia de Arrhenius, se adquirió el marco de tiempo de usabilidad realista para el jarabe de acetaminofen en portavasos de 18,4 meses y para los compartimentos de polietileno de alto espesor de un año. Se descubrió que el jarabe de acetaminofen se conserva mejor en compartimentos de vidrio. El colorante extraído de *Bixa orellana* L. (achiote) mostró mediante pruebas organolépticas que se encuentra mejor protegido en los compartimentos de vidrio, ya que no hay evidencia de progreso en la resonancia subyacente, mientras que en los soportes de polietileno de alto espesor la resonancia disminuyó hacia el final. la investigación.

Viteri (2018). Encontró que el 25% del concentrado de metanol de hoja de *Bixa orellana* arroja un normal de 1,20 UFC / ml de *Candida albicans* a las 24 horas de inmunización y el control negativo tuvo una media de 123,80 UFC / ml, en cambio a agrupaciones de 75% y 100 % no hubo desarrollo (0 UFC / ml), esta conducta fue comparable para el control positivo. Para las 48 horas de vacunación, se resolvió que el 75% y 100% del concentrado y el control negativo revelaron ventajas de 0 UFC / ml del parásito, mientras que el 25% del concentrado formó 2,20 UFC / ml y con el control Negativo fue un desarrollo incontable del crecimiento. Extremos: Las convergencias del 75% y el 100% del concentrado metanólico de la hoja de *Bixa orellana* presenta una cantidad más modesta de unidades conformadoras de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 (0 UFC / ml) tanto a las 24 como a las 48 horas de incubación, a la inversa con la centralización del 25% que mostró desarrollo del organismo. Estos ejemplos tenían una actividad antifúngica similar a la clorhexidina, por lo que son viables en la eliminación y / o disminución de *Candida albicans*.

García (2018). Evaluó la actividad antidiarreica del extracto acuoso de las hojas de Achiote (*Bixa Orellana*) en ratas albinas, Ceba Holtzan”, que tuvo como objetivo comprobar la actividad antidiarreica del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) en ratas inducidas con aceite de ricino. Investigación aplicada, de enfoque cuantitativo, que busca dar respuestas objetivas y expresadas además en índices numéricos puntuales del objeto de estudio. Así mismo, presenta un carácter transversal, en donde se midió la actividad antidiarreica. En la prueba estadística del test de ANOVA se obtuvo un $p < 0.05$, en la prueba estadística de % en efectividad del extracto acuoso se obtuvo los valores de 1000 mg/kg (66.6%) y 500 mg/kg (54.2%). En la marcha fitoquímico observamos la presencia de los siguientes metabolitos secundarios alcaloides, compuestos fenólicos, taninos y flavonoides. Finalmente queda resuelto que el producto del extracto acuoso de *Bixa Orellana* L. (achiote) si posee actividad antidiarreica. Concluyendo que los metabolitos secundarios del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. El nivel de concentración de la dosis de 1000 mg/kg del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) presentó más actividad antidiarreica. La actividad antidiarreica del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L.

Alvarado (2021). Buscó determinar los Metabolitos Secundarios de hojas de once morfotipos de *Bixa Orellana* L. por Métodos Espectrofométricos”, que tuvo como objetivo determinar por métodos espectrofométricos los Metabolitos Secundarios de hojas de once morfotipos de *Bixa Orellana* L. Investigación descriptiva, se desarrolló de manera experimental recopilando datos obtenidos de distintas fuentes con intervención del investigador. Las comparaciones múltiples entre los grupos de estudio aplicando la prueba Duncan, donde los valores obtenidos de alcaloides presentes en hojas de los once morfotipos de *B. orellana* L., siendo importante resaltar que los morfotipos 9,11,10 y 7 presentan 45,82 mg/100g, 44,94 mg/100g, 39,72 mg/100g y 39,04 mg/100g respectivamente, siendo estos valores los más altos. Los valores obtenidos para saponinas presentes en hojas de los once morfotipos de *B. orellana* L., siendo importante resaltar que los morfotipos

9,11,10 y 7 presentan 577,741 mg/100g, 567,654 mg/100g, 549,561 mg/100g y 514,583 mg/100g contienen valores más altos en comparación con los otros morfotipos. Concluyendo, que de los once morfotipos estudiados, hay 4 morfotipos con valores máximos en cuanto al contenido de polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides y saponinas; dichos son los morfotipos 9,11,10 y 7 respectivamente.

Compounds isolated from *Bixa orellana*: evidence-based advances to treat infectious diseases (2020). Se buscó determinar los avances basados en la evidencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas en compuestos aislados de *Bixa Orellana*. Los artículos fueron buscados en la base de datos Pubmed (1998 a marzo de 2019) artículos científicos. Los términos de búsqueda fueron: "*B. orellana* ", " actividad antimicrobiana" y " antibacteriano". Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva, pero solo se incluyeron extractos de urucum y compuestos aislados con resultado positivo. Esta revisión se ha llevado a cabo debido al actual incremento de artículos publicados sobre *B. orellana*, así como al incremento del número de publicaciones al respecto. Se evaluaron los efectos in vitro e in vivo del aceite importante de semillas de *B. orellana* contra *Leishmania amazonensis*. El aceite enseñó actividad contra la manera de amastigote intracelular (IC50 = 8.5 µg / mL), en lo que la concentración citotóxica ha sido 7 veces más grande para las células huésped. Se enseñó la capacidad del aceite de *Bixa* para el control de la progresión de la leishmaniasis cutánea implantada en ratones BALB / c, luego de un procedimiento con 30 miligramo / kilogramo por gestión intraperitoneal a lo largo de 14 días. Dichos trabajos demostraron una buena actividad del extracto contra las bacterias: *B. Se enseñó la actividad antiinflamatoria del extracto de B. orellana*, indicada por la eliminación del crecimiento de la permeabilidad vascular y la infiltración de leucocitos, concluyendo que la inhibición de los eventos inflamatorios posiblemente se encuentre mediada por la inhibición de la formación y liberación de NO y VEGF *B. orellana*, haciendo más fácil el desarrollo científico.

Gatsou (2020). En su investigación “Anti-oxidant and anti-inflammatory potential of aqueous extracts of leaves, barks and roots of *Bixa orellana* L. (Bixaceae) on acetaminophen-induced liver damage in mice”, evaluó los efectos protectores de esta planta sobre la lesión hepática subaguda inducida por acetaminofén (APAP) en ratones. Se prepararon diversos extractos acuosos de raíces, hojas y corteza. Los ratones albinos se dividieron en 6 equipos: un conjunto de control, un conjunto APAP; un conjunto de silimarina (control positivo) y 3 conjuntos de prueba. Los ratones se han tratado por vía oral con APAP (250 miligramo / kg) seguido 3 horas después por extractos de plantas, gestión de silimarina (50 miligramo / kg) o agua destilada (10 ml / kg) una vez al día a lo largo de 7 días. Los exámenes histológicos se han realizado por medio de tinción con hematoxilina / eosina y el contenido fitoquímico cualitativo de los extractos de plantas se evaluó por medio de procedimientos convencionales.

Medina & Minaya (2019), investigaron el “Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales en ratones albinos” que tuvo como objetivo estudiar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Bixa orellana* L. sobre heridas superficiales presentes en ratones albinos. Esta investigación que se llevó a cabo fue de tipo analítica, experimental y preclínica, que se desarrolló en el laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana, de la Universidad San Pedro. La población para este proyecto estuvo compuesta por la presencia de 36 ratones *musculus var. Albinus*, que fueron posteriormente divididos en seis grupos, cada uno conformado por 6 ratones, siendo el primer grupo en recibir SSF de 2 ml / kg, el segundo grupo recibió sangre de grado, al tercer grupo se le administró cicatricure mientras que la 4, 5 y 6 se le administró extracto de achiote en concentraciones del 10%, 50% y 100%, respectivamente. Se continuó con el test de cicatrización donde los datos obtenidos se sometieron a análisis estadístico descriptivo y análisis de varianza con el programa SPSS ($p < 0.05$). Se logró evidenciar que cuando la concentración de extracto es del 100%, muestra un mayor efecto

cicatrizante (efectividad 56, 44%). Se llegó a la conclusión de que el extracto etanólico de hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" posee un efecto cicatrizante en las heridas superficiales de *Mus musculus* var. *Albinus*.

Murillo (2019) en su proyecto de investigación denominado "Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de achiote (*bixa orellana*) sobre cepas de *streptococcus mutans*" muestra que el presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones (50%, 100%) de extracto achiote (*Bixa orellana*) sobre cepas de *Streptococcus mutans* mediante estudios in vitro. Los métodos a realizar indica que se aplicaron estudios experimentales, in vitro y comparativos en una muestra poco probable de 20 placas de Petri que contenían cepas de *Streptococcus mutans*, divididas en dos grupos de estudio: Grupo A: extracto de *Bixa Orellana* al 50 en 10 placas de Petri con revestimientos y Grupo B: 10 placas de Petri remojado en extracto al 100% de *Bixa orellana* usándose en ambos grupos la clorhexidina al 0.12% como control positivo junto al agua destilada como control negativo. El efecto inhibitorio se evaluó midiendo el halo inhibitorio con una regla milimétrica. Los datos obtenidos fueron procesados por el programa estadístico SPSS aplicando la prueba estadística de Kruskal Wallis y la prueba de Mann-Whitney. Como resultados se logró obtener que al 50% de concentración, el efecto inhibitorio del extracto de *Bixa orellana* contra *Streptococcus mutans* fue constante, con una zona inhibitoria de 6-6,25 mm y al 100% una inhibición máxima de una zona de 9,4 mm. En comparación con el gluconato de clorhexidina al 0.12%, el efecto fue más débil en ambas concentraciones, la clorhexidina mostró un rango máximo de 12,50 mm y el extracto de achiote mostró un efecto inhibitorio en comparación con una solución salina de concentración de 50% (6mm) y de manera aumentada al 100% (8,40 mm). Se concluye que, dado que el extracto de *Bixa orellana* no superó el 0,12% del efecto inhibitorio de la clorhexidina sobre *Streptococcus mutans*, se deben investigar métodos para extraer el ingrediente activo del achiote para potenciar el efecto inhibitorio de *Streptococcus mutans* y otros agentes patógenos.

Galván (2019) en su proyecto de investigación titulado “Evaluar el efecto bactericida del extracto etanólico de la hoja *Bixa orellana* L.”ACHIOTE” sobre cepas de *Salmonella typhi* ATCC 167 comparado con azitromicina, estudio in vitro” se realizó un estudio de tipo experimental in vitro con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L relacionándolo con la azitromicina a 5 µg contra la cepa de *Salmonella typhi* ATCC 167 a realizarse en un estudio in vitro. Se llevó a cabo 4 diluciones de extracto etanólico (100%, 75%, 50% y 25%), azitromicina a 5 µg y un control neutro junto con DMSO. Cada grupo de estudio se repitió 10 veces. Se logró determinar que el extracto etanólico de *Bixa orellana* L. demuestra halos inhibidores mediante diluciones del 75% (15,6 mmDS ± 2,1 IC 95% 14,1-17,1) mientras que al 100% el halo inhibitorio fue de 18,1 mm DS ± 1,5 IC 95% 17,0-19,2 siendo un valor que se considera válido frente al estándar CLSI (> 12 mm) pero que no llega a superar el halo de inhibición de azitromicina (28,5 mm, DS: ± 1.0 IC 95% 27,8-29,2). El ensayo de Tukey mostró que el grupo evaluado fue parejo y el grupo azitromicina tuvo mayor actividad antibacteriana, por lo tanto, el análisis estadístico ANOVA mostró que los resultados del estudio fueron muy significativos (p = 0,000). Se observó que a mayor concentración de extracto etanólico en las hojas de *Bixa orellana* L., mayor halo de inhibición. Se concluyó que el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. exhibió actividad antibacteriana contra las cepas de *Salmonella typhi* ATCC 167, pero fue inferior al de la azitromicina y podría utilizarse como adyuvante en el tratamiento de la enfermedad tifoidea.

Alegria (2017) con su proyecto de investigación llamado “Evaluación de la actividad cicatrizante, en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de *Bixa orellana* L. (Achiote), *Ocimum campecheanum* Mill. (Albahaca de monte) y *Aloe vera* L. (Sábila)” concluyó mediante la evaluación de la actividad curativa de las preparaciones de pomadas de hierbas basadas en *Bixa orellana*, *Ocimum campechianum* y *Aloe vera* comparándolas con estudios

previos para evaluar si eran más efectivas que otras preparaciones, individualmente o no, utilizándose en heridas secundarias de ratones albinos. Se hizo uso del análisis estadístico del modelo de varianza, la comparación de los controles mediante el análisis de Dunnett y las gráficas de rango como también la comparación porcentual de los resultados. Los resultados mostraron que después de 10 días de tratamiento, el ungüento al 30% (10% de *Bixa orellana*, 10% de *Occimum campechianum* y 10% de *Aloe*) demostró que no era mejor que *O. campechianum* solo y *A. vera*, pero que en preparados de *B. orellana* los individuos de control dieron positivo ya que hubo una reducida población donde la herida se cerró por completo. En ausencia de estudios sobre *B. orellana*, el 10% de las preparaciones solas se realizaron y mostraron una mejor regeneración tisular que la combinación de pomadas y controles activos.

Álvarez, Fernández y Rodríguez (2008), al evaluar el efecto diurético del extracto acuoso de pericarpio de melón (*Cucumis melo* L), variedad *reticulatus* Naud) en ratas, evidenciaron un incremento del volumen de orina y la concentración de electrólitos en relación con el grupo control. Excreción urinaria, actividad y acción diurética fueron en algunos casos, similares al diurético de referencia. La relación sodio-potasio sugiere un mecanismo de acción tipo furosemida. Concluyendo que existe efecto diurético de la decocción de concha de melón.

Daud, Habit, y Sánchez, (2007). Estudiaron la actividad diurética de extractos acuoso de *Polylepis australis* Bitter (queñoa) en ratas de la línea Wistar encontrando que el extracto posee mayor actividad diurética y salurética frente al grupo control y a la furosemida (20 mg/kg). Se analizó la relación Na^+ /K^+ y se observó un incremento frente al control negativo e inferior frente al diurético de referencia, lo que sugeriría que los extractos acuosos de hojas y corteza de queñoa podrían actuar como diuréticos tiazídicos, los cuales aumentan los niveles urinarios de K^+ alterando la relación Na^+ /K^+ . Concluyéndose que las hojas y corteza de queñoa poseen efecto antihipertensivo y por lo tanto actividad diurética.

Gasparotto, Aurelio y Botelho (2009). Investigaron Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum-majos* (tropaeolaceae) in rats. Así pudieron evidenciar que la ingesta en un 10 % del producto estudiado lo que incrementó de manera significativa la secreción de Na⁺ en orín. Solo la administración oral de 300mg/kg de HETM incremento de modo significativo la secreción; en el caso de una ingesta por largos periodos se acrecienta de modo significativo la cantidad de orín producida y la secreción de Na⁺, sin verse influenciados otros aspectos. Con el fin de conseguir evidencia de algún tupo respecto a la probable implicancia que tienen las prostaglandinas sobre la producción de orín, la ingesta conjunta de HETM con indometacina de 5mg/kg minimizó la secreción de orín con Na en comparación a la administración individual de HETM. En tal sentido, se establece como resultado que HETM parece contener agregados que influyen en la producción de orín sin presentar rastros tóxicos, lo que a su vez puede estar involucrado con las prostaglandinas.

Adam, Somchit, Sulaman, y Nasaruddin, (2009). En su estudio: Diuretic properties of *Orthossiphon-Staminues-Benth*. Hallaron que la producción de orín se encuentra en función de la dosificación de este producto. No obstante, se evidencia que la secreción de tanto Na⁺ como Cl⁻ no ha sido elevadamente notable, aunque si incrementó de manera significativa la producción de K⁺. El extracto del producto estudiado aumentó en la sangre de forma ligera el nitrógeno ureico, la glucosa y la creatinina; pese a que según la estadística estos aspectos son significativos frente al control, aún pertenecen al segmento normal. Debido a ello se puedo evidenciar que este producto denota promover ña secreción de orín, aunque no en igual medida como las hidroclorotiazidas y furosemidas.

En Argentina Habib, Daud y Sánchez (2005), evaluaron los efectos diuréticos del extracto acuoso y alcohólico de *Phrygilanthus acutifolius-corpo* en dosificaciones de 200mg/kg y 400mg/kg del peso corpóreo. A partir de ello, se compararon las resultantes con los alcanzados en cuanto al diurético referencial (furosemida) mediante una dosificación de 20mg/kg del peso, mientras que como control

negativo se usó una solución fisiológica. En tal sentido, se demostró que los extractos investigados tienen incidencia en la producción de orín, sobre todo en las dosificaciones de menor cantidad puesto que demuestran ser más efectivos con relación a la otra, por otro lado, en cuanto al control referencial se puede precisar que este tubo menor segregación de K, por lo que es posible decir que los extractos son ideales para actuar como ahorrador de este elemento.

Felipe, García, Scull, Herrera & Fernández (2011), al investigar los efectos diuréticos del extracto tanto acuoso como seco de *Caesalpinia-bahamensis-lam* (brasilete) sobre un grupo de 30 y emplear una evaluación con ayuda de una jaula metabólica para cada roedor que permite cuantificar el orín (vol/hr). A través de esto, se halló que el grupo control registra el mayor punto de actividad después de los 60 minutos de la administración, mientras que en el grupo de estudio se pudo notar esto a los 120 minutos, sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con relación al actuar biológico de los grupos con Furosemida. En tal sentido, se determinó que el producto estudiado tiene una consecuencia diurética marcada consiguiendo el mayor valor posterior a los 120 minutos de la administración.

En el Ecuador Naranjo (2013). Al evaluar tanto la producción de orín como la medición de polifenoles de jamaica (*hibiscus-sabdariffa-L.*) producida en una zona de este país; por lo que se utilizó el cáliz de las flores y lo administró por vía oral en *Rattus norvegicus* y tratadas experimentalmente en jaulas metabólicas. También cuantificó los polifenoles presentes en la muestra vegetal a través del método FolinCiocalteu siendo esto un 0.29 %. El trabajo de determinar la presencia de algún metabolito se llevó a cabo a través de la separación de los componentes por las capas columna y fina (cromatografía), ello con la ayuda del disolvente acetato de etilo-2propanol-agua-formic acid(6: 2: 2: 1v/v) comprobando la existencia de delphinidina- 3- glucosido- xilosa(Hibiscina) además de la cianidina- 3- glucosido- xilosa. El aumento de la cantidad producida y secretada de orín del caso estudiado fue de 2mL, en cuanto a los casos del

referencial positivo (furosemida) este dio 8mL mientras que el polifenol en cantidades de 10-20-30-40-80mg/Kg generaron respectivamente 1.6-3.5-2.9-1.9-0.9mL de orín. Concluyéndose que con 20 mg/Kg que tiene un porcentaje de orín con respecto caso de estudio del 75% y frente a la referencia del 47 %, con una cantidad volumétrica de secreción en el caso del conducido con 78 %, el producto elaborado no se caracteriza por ser toxico en ningún nivel.

Dentro del escenario de Guatemala, el autor Noriega. (2015). Durante su trabajo al intentar establecer la influencia diurética de los extractos acuosos de una serie de especies vegetativas de la familia citrus consideradas de carácter medicinal como lo son las: aurantifolia, paradisi y reticulata. Evidenció que estas incrementan significativamente la cantidad de orín dentro de los grupos de estudio sin la necesidad de considerar sus hojas.

Apéstegui (2009). Al evaluar la incidencia diurética que tienen los zumos del limón, teniendo en consideración tanto una referencia negativa como 2 medicamentos referenciales, halló que este tiene una dosis letal media igual a 5000mg/Kg del peso corpóreo. A partir de esto se concluyó que este producto genera una incidencia positiva en la producción y secreción de orín, los electrolitos y el pH, cabe mencionar que su uso no es perjudicial si es que se consume hasta una única dosificación por día igual a 5000mg/Kg.

Bonifaz y Muñiz. (2018), Al evaluar la influencia de tipo diurético de los extractos hidroalcohólicos producto de hojas desecadas de la cotidianamente conocida como palta fuerte, encontraron que estos extractos son solubles por medio de disolventes polares, siendo insolubles a través de disolventes apolares, hallándose presentes para este caso los metabolitos de orden secundario (flavonoides, fenoles, taninos, alcaloides y saponinas). Los niveles porcentuales volumétricos de secreción de orín con respecto a las dosificaciones 100mg/Kg, 200mg/Kg y 400mg/Kg con una hidroclorotiazida de 49 % fueron respectivamente iguales a los valores de 28 %, 30 % y 46 %; por otra parte, la labor diurética en dosificaciones 100mg/Kg,

200mg/Kg y 400mg/Kg dieron porcentajes de 69.3 %; 76.4 % y 83.9 %, siendo importante señalar también que en cuanto a electrolitos hubo discrepancias relevantes, todo ello con un pvalor <0,05. Demostrando con ello que este producto incide moderadamente.

Oré, J. (2015). En su estudio que buscó determinar los efectos diuréticos de los extractos hidroalcohólicos de las hojas que tienen las denominadas rosas verdes además de su dosificación de electrolitos. Encontraron que la presencia de metabolitos de orden secundario (flavonoides, fenoles, taninos, alcaloides y saponinas). Respecto a los valores porcentuales de la secreción de orín por las dosificaciones iguales a 100mg/Kg, 200mg/Kg y 400mg/Kg con relación a la furosemida en 34,4 %, se generaron los porcentajes de 22,5 %, 24,3 % y 30,3 %; por otra parte, sobre la labor diurética con respecto a dosificaciones de 100mg/Kg, 200mg/Kg y 400mg/Kg se tuvieron porcentajes de 67,2 %; 72,0 % y 88,7 %; existiendo discrepancias estadísticamente significativas en lo que a los electrolitos refiere, todo ello con un pvalor <0,05. Demostrando con ello que este producto incide moderadamente.

1.2. Justificación de la investigación

Los diuréticos son medicamentos que estimulan la excreción renal de agua y de electrolitos por lo que son utilizados para regular tanto el volumen como la composición del medio interno en diferentes afecciones como la hipertensión, insuficiencia cardiaca, síndromes nefróticos, entre otros. Históricamente, la clasificación de los diuréticos ha sido variada, considerándose en ello: el sitio de acción (diuréticos de asa), eficiencia (diuréticos de techo alto), estructura química (diuréticos tiazida), similitud de acción con otros diuréticos (diuréticos parecidos a tiazidas), efectos sobre la excreción de potasio (diuréticos ahorradores de potasio) y otros (Hilal-Dandan, 2015).

La actividad diurética puede ser evaluada a través de métodos *in vitro* como la inhibición de la anhidrasa carbónica, técnicas *patch clamp* en células renales, perfusión de túbulos renales aislados y riñón aislado (métodos *in vitro*) y métodos *in vivo* como la actividad diurética en rata (Test de Lipschitz), actividad salurética en ratas y actividad diurética y salurética en perros. El Test de Lipschitz (1943) es el más utilizado y se basa en la comparación de la excreción de agua y electrolitos en ratas previamente tratadas con la sustancia en estudio y una sustancia de eficacia comprobada, donde se utiliza ratas albinas machos colocadas en jaulas metabólicas para recolectar orina excretada, previa administración de solución de cloruro de sodio 0,9 %, 5 mL por 100 g de peso, como control negativo y se realizan mediciones de orina que pueden llegar hasta las 24 h (Hilal-Dandan, 2015).

El uso de plantas con fines curativos surge desde tiempos remotos, donde el hombre no contaba con ningún otro recurso efectivo para tratar las enfermedades que le aquejaban, siendo las plantas una de las alternativas terapéuticas de la época. Lo cual se fue enriqueciendo el conocimiento popular en esta materia (Kokate, 2015). Consiguientemente con el desarrollo de algunas ciencias, como la química, disminuyó el uso de las plantas medicinales, ya que éstas comenzaron a ser sustituidas por diversos fármacos obtenidos por síntesis química. Sin embargo, en la actualidad, se ha retomado nuevamente el empleo de medicamentos herbarios, con eficacia comprobada, inclusive como los propios medicamentos sintéticos, presentando grandes ventajas (Hilal-Dandan, 2015).

El achiote (*Bixa Orellana* L.), una planta arbustiva de 3 a 10 m de altura, es nativa de los trópicos americanos con frutos globosos a ovoides con colores como rojo, verde, amarillo, o tonos de estos. Históricamente se ha utilizado como alimento, medicina y colorante. El uso de achiote como colorante en alimentos, textiles, industrias farmacéutica y cosmética se debe a los compuestos carotenoides presentes en las semillas, especialmente bixínea apocarotenoide. A pesar de ser un cultivo agroindustrial importante en el Perú, la producción local de achiote se caracteriza por rendimientos bajos, con menor contenido de bixina en comparación con otros países. Esto puede atribuirse en parte a la ausencia de una variedad o ecotipo establecidos. Se sabe poco sobre las características de las plantas locales de achiote y también hay muy pocos estudios publicados sobre la caracterización del material peruano. Esta información es necesaria para mejorar genéticamente este cultivo. (Nolasco Chumpitaz,2020)

La Bixina es el carotenoide primordial extraído de las semillas de achiote (80 %), usado en la actualidad como aditivo de color en una extensa variedad de alimentos, medicamentos y cosméticos, constituyéndose de esta forma profundo fuente económica en diversos territorios de todo el mundo, cuyos datos toxicológicos tras diversos experimentos en animales y humanos resultan muy escasos (Molina, 2017).

Los extractos vegetales nos brindan una gama de secuelas terapéuticos, empero pocos estudios se desarrollaron de las secuelas colaterales de éstos una vez que se completaron de forma prolongada y en una dosis inapropiada, por tal fundamento la presente indagación tuvo como fin fundar la toxicidad oral a dosis reiteradas a lo largo de 30 días del extracto etanólico. Concluyendo que la aplicación por vía oral a lo largo de 30 días en ratas no es tóxica (Motta y Paucar, 2019).

Los productos naturales se han constituido en unas alternativas terapéuticas para tratar múltiples enfermedades. Siendo motivo de múltiples investigaciones que

pueden conllevar a encontrar una alternativa segura y al alcance de la población a muy bajo costo.

1.3.Problema.

¿El extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) tendrá efecto diurético al administrarlo por vía oral en ratas?

1.4 Marco Referencial

1.4.1. Diuréticos (Hilal-Dandan, 2015).

Los también denominados en la práctica como píldora de agua, son medicamentos que influyen en la secreción por medio de los riñones tanto de electrolitos como de agua, ello por el efecto que tienen al perturbar la transportación iónica dentro de las nefronas. Dicha incidencia es posible que se dé dentro de un solo sitio o varios dentro de la vía tubular, siendo propósito esencial alcanzar un nivel balanceado de agua (negativo), aunque se debe mencionar que estos no inciden precisamente sobre esta sustancia, por lo contrario, actúa sobre el Na por medio del diurético u osmótico. En este sentido, la función general del diurético es enfocarse en tratar las hinchazones producto de la abundancia de líquidos. No obstante, del modo que sea este puede alterar también otras series de tanto iones como funciones, es por ello que se emplean también en otros tratamientos.

1.4.1.1. De acuerdo con Hilal – Dandan (2015) las drogas diuréticas se clasifican de la siguiente manera, a continuación, se detallan:

1.4.1.2. 1.4.1.1.1. Inhibidores de la reabsorción de sodio.

- **Diuréticos Tiazídicos,** estos son procedentes de la benzotiadiazinas y congéneres, considerados como los diuréticos mas significativos desde una perspectiva terapéutica, estos son utilizados en diversos tratamientos como manifestaciones edematosas, hipertensión o diabetes, los diuréticos mayores empleados en hipercalciuria idiopática, son la clortalidona, el metolazona, xipamida, el Bendroflumetiazida, entre otros.
- **Diuréticos de Alta eficiencia:** Estos diuréticos contienen sustancias y componentes muchos más intensos a comparación de los tiazídicos, esta intensidad se debe al aumento de uso de sodio, cloruro, agua y potasio, dentro de esta lista de diuréticos podemos encontrar, la Indapamida, Bumetanida y otros.
- **Diuréticos Ahorradores de potasio:** llamados o conocidos como inhibidores de aldosterona, dado que tiene la finalidad de bloquear estos, es decir tienen como propósito impedir que el sodio y agua sean reabsorbidos, dentro de esta familia de diuréticos se tiene al amilorida y Espironolactona.

1.4.1.1.2. Diuréticos osmóticos: Dentro de esta familia de diuréticos se encuentran el manitol y la urea, los cuales se encuentran compuestos por hipertónicos. Estos comúnmente son aplicados mediante vía venosa, tiene el rasgo de no absorberse o lo hacen mínimamente por lo túbulo, aplicando en ese instante una presión osmótica mediante la retención de agua, además, pueden reabsorber sodio y cloruro, en ese caso generando una aguda diuresis osmótica, referente al manitol este es empleado en concentraciones del quince a veinte por ciento.

1.4.1.1.3. Diuréticos inhibidores de la Anhidrasa carbónica: Esta es una enzima catalizadora a continuación su representación $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$. Esta enzima puede encontrarse en todos los tejidos y para que puedan resultar efectivos requieren ser inhibidos a un 99%. Dentro de esta familia de diuréticos se pueden mencionar algunos como son la acetazolamida y metazolamida.

1.4.2. Plantas medicinales empleadas como diuréticos

Existen especies vegetales conocidas por su acción diurética, dado sus componentes estas plantas pueden generar algún beneficio ante algún mal específico, comúnmente estas plantas producen una excreción de agua sin tener que eliminar iones. Estos diuréticos naturales tienen una

efectividad suave e inferior a comparación de los diuréticos que se encuentran en una farmacia, estas plantas comúnmente poseen aceites esenciales, sales de potasio y otros. Referente a su forma de actuar se puede señalar que estos actúan a nivel glomerular, consiguiendo así una mejor y aliviada circulación, la filtración que origina es reflejada en forma de orina primaria, este resultado es conocido como la cuarexis. Cabe señalar que las sales de potasio generan un efecto diurético debido a una causa osmótica. Por otra parte, se pueden manifestar que también existen heterósidos cardiotónicos que pueden contener sustancias diuréticas (Pérez et al., 2011).

1.4.3. *Bixa orellana* (achiote).

1.4.3.1. *Generalidades*

Es un arbusto americano con amplia distribución geográfica y conocido generalmente como achiote, es una planta de gran adaptabilidad a diferentes sistemas agroforestales y con numerosas aplicaciones en las industrias relacionada con alimentos, bebidas, cosméticos, textiles y diversos productos químicos. **(Yovera, 2019).**

La *Bixa orellana* L conocido vulgarmente como Achiote, es un árbol nativo del trópico americano, cultivado y naturalizado en las regiones tropicales y sub-tropicales del mundo, se puede cultivar desde el nivel del mar hasta unos 1,200 m.s.n.m. con una temperatura entre los 24-30°C, prosperando en una diversidad de suelos con buen drenaje. **Cerruti, Nina, Nonato, Gorriti, Villacrés, Ríos y Mestanza (S.F).**

1.4.3.2. *Origen*

Es una planta de origen americano que se cultiva de manera nativa en distintos países como Perú, Brasil, Ecuador, México y Bolivia. Además, ha llegado a cultivarse en distintas zonas del mundo, en países como India y Sri Lanka (Medina, 2015).

1.4.3.3. Taxonomía

Nombre científico: *Bixa orellana* L

- **Sinónimos:** *Bixa acuminata* Bojer, *Bixa americana* Poiret in Lam., *Bixa odorata* Ruiz & Pav. ex G. Don, *Bixa platycarpa* Ruiz & Pav. ex G. Don, *Bixa tinctoria* Salisb., *Bixa upatensis* Ram. Goyena, *Bixa urucurana* Willd., *Orellana americana* Kuntze, *Orellana Orellana* (L.) Kuntze (Botanical, 2020).

Nombres comunes	Achiote, bija, achote, bicha, onoto, anato , urucú.
Superreino	Eukaryota
Reino	Plantae
Subreino	Trachebionta
Superdivisión	Spermaphyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Delleniidae
Orden	Violales
Familia	Bixaceae
Género	<i>Bixa</i> L.
Especie	<i>Bixa orellana</i> L.

1.4.3.4. Ubicación

En el Perú, la Bixa orellana L. se encuentra en la zona de montaña y selva baja de los departamentos de Junín, Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín (**Medina, 2015**).

1.4.3.5. Principales constituyentes

Las semillas de esta planta son ricas en un pigmento rojizo, el cual es una mezcla de carotenoides como bixina, norbixina, fitoeno y caroteno. Contienen además saponinas, compuestos fenólicos, aceites fijos, terpenoides, tocotrienoles y flavonoides, incluyendo luteolina y apigenina.

1.4.3.6. Composición química

La composición química de la Bixa orellana L. se da por distintos constituyentes. Dentro de ellos, se han identificado treintaicinco componentes, los más importantes son el acetato de (Z-E)-farnesilo, acetato de occidentalol, espatulenol, bixina y norbixina, siendo estos dos últimos componentes los mayores constituyentes (**Medina 2015**).

Asimismo, contiene otros compuestos como saponinas, compuestos fenólicos, aceites fijos, terpenoides, tocotrienoles y flavonoides, como la luteolina y apigenina. La bixina representa el 80% de todos los carotenoides presentes en esta semilla. El componente fundamental de la Bixa orellana L., la bixina, es un excelente pigmento que presenta numerosas ventajas siendo utilizado en la industria, ya que se utiliza como colorante inocuo y se le atribuye una baja toxicidad tanto para el consumo humano como para la aplicación en la piel. También posee alta resistencia a agentes químicos, por lo que se utiliza para colorear bebidas, alimentos, así como en cosmética y en farmacia para ungüentos o pomadas (**Medina 2015**)

1.4.3.7. Uso medicinal

- **Antiemético (contra los vómitos de sangre):** Se recomienda consumir el achiote a través de infusiones u hojas molidas o machacadas.
- **Remedio contra el cianuro y ácido cianhídrico:** Se recomienda consumir esta planta a través del consumo de frutos o infusiones.
- **Homeostático:** El achiote sirve para contrarrestar los síntomas de las hemorroides, angina y abscesos.
- **Cefálico:** Su forma de utilización es a partir de las hojas machacadas, en forma de pasta las que se aplican en la sien y en la frente.
- **Para dolencias del aparato respiratorio y afecciones de la garganta:** Se recomienda las infusiones provenientes de las semillas y hojas.
- **Para malestares hepáticos:** Se utiliza sus semillas y su tinte, y también se toma el cocimiento de los cogollos.
- **Dolor de riñones:** Se recomienda consumir las hojas sancochadas.
- **Inflamación de la piel y malestares de la zona vaginal:** Se debe añadir el macerado acuoso a partir de sus hojas.
- **Para la malaria, diurético y asma:** ingerir la raíz cocida.
- Sirve como cicatrizante, con la utilización de las hojas maceradas, luego se deberá limpiar la zona afectada con las hojas cocidas.
- **Hipertensión:** Ingerir el macerado acuoso de sus hojas.
- Conjuntivitis: Aplicación en los ojos del macerado acuoso del tallo o de las hojas.
- **Vómitos y fiebre:** Se toman las hojas en infusión utilizando tres hojas por taza y beber tres tazas por día.
- **Quemaduras:** Añadir la trituration de sus semillas frescas.
- **Como tónico estomacal:** Se debe consumir sus semillas en forma de macerado acuoso.

- **Acarosis (caracha):** Preparar en base de aceite de higuierillas un macerado de las semillas machacadas para su aplicación.
- **Depurativo:** Beber el cocimiento de la corteza raspada.
- **Expectorante:** Ingerir la infusión de las semillas.
- **Cardiotónico:** Tomar la infusión de las semillas o de las hojas.
- **Amigdalitis:** Beber preparado de miel de abejas combinadas con el polvo de sus semillas.
- **Sedante:** Ingerir el preparado en mezcla de las hojas o de la corteza cocidos, con las hojas de toronjil, rosáceas y rosas.
- **Inflamación ocular:** Preparar un macerado acuoso de la corteza, cuyo resultado de mucilago debe ser instilado.
- **Digestivo:** Beber el cocido de la corteza del tallo o de sus hojas. Lepra: preparación de una pasta de las hojas que debe ser aplicada con sulfato de magnesio o también tomar el aceite de las semillas.
- **Infecciones a la piel:** Preparación de las hojas en macerado, que luego serán colocadas sobre la piel en forma de emplasto. Para su proceso dejar hasta el día siguiente de 9 a 12 hojas en un litro de agua, para su posterior aplicación en la zona lesionada.
- **Antiséptico vaginal:** Restregar las hojas en un litro de agua y dejar hasta el día siguiente. Este líquido debe ser aplicado en forma de lavados vaginales.
- **Hepatitis:** Ingerir las yemas florales en forma de decocción.

1.4.3.8. Estudios toxicológicos

Las evaluaciones toxicológicas de carácter agudo efectuados para los extractos de achiote permitieron determinar un bajo nivel toxico; esto fue hecho mediante la investigación de un grupo de roedores a quienes se les proporcionó una dosificación de 2000mg/kg/día del producto mencionado, demostrando que casi no generaba consecuencias físicas

negativas. Paralelamente, una investigación para determinar la sensibilidad de la piel de extractos de Bixa-orellana en una madriguera no mostraron cambios significativos, siendo esto contrastado con un estudio histológico en base a sus pieles y pelajes.

La dosis letal media de semillas fue igual a 700mg/ Kg en roedores, los cuales lo adoptaron mediante el tejido que cubre el abdomen. Respecto a los estudios de toxicidad aguda en estos, se determinó que, en el caso de los individuos de estudio, los extractos metanólicos con base en hojas no producen consecuencias toxicas hasta una dosificación de 4000mg/ Kg.

Genotoxicidad-oncogénesis: Dentro de una evaluación efectuada en un grupo de roedores se determinó que los extractos a partir de bixa en dosificaciones iguales al 200mg/ kg/ día (3%) no son suficientes para la oncogénesis hepática. Asimismo, otro reporte indica que este producto no produce genotoxicidad u oncogénesis (concentración de 1000mg/ L).

Embriotoxicidad-toxicidad materna: El achiote no incidió de ninguna manera en la generación de alteraciones físicas dentro de la descendencia del grupo de estudiado, concluyéndose así que no representa toxicidad en el caso de la madre o el embrión.

Reacciones alérgicas (ser humano): Se ha encontrado un único estudio en el que se ha reportado reacción anafiláctica a los extractos con bixa, aunque por lo visto esto se debió a la impureza proteica derivada de la fracción del colorante; encontrándose esto dentro de los parámetros esperados pues se sabe que el consumo de pigmentos de carácter natural presentan un mínimo casi inexistente porcentaje de riesgo a presentar reacciones desfavorables.

La ONUAA a través de la Nutrition Meetings Report Series ha expresado que no existen evidencias de toxicidad debido a los extractos de bixa,

esto sustentado en diversas investigaciones actuales que buscaron establecer si este producto era tóxico o no al entrar en contacto con la piel para lo cual emplearon grupos de conejos y roedores. Del mismo modo, se menciona a investigación con más tiempo de antigüedad en la cual la preparación de bixa no demostró generar efectos en cuanto a tres análisis sobre la capacidad de provocar alteraciones. Por ende, se concluyó que los extractos con achiotes son frecuentemente conocidos como productos que rara vez se ven asociados con la generación de reacciones de hipersensibilidad entre las que se puede señalar a las angioedema, eczema y urticaria, siendo esto contrastado por medio de investigaciones clínicas Double-blind debidamente controladas.

1.4.3.9. Efectos Toxicológicos

A nivel Cardiovascular: El Achiote podría potenciar la actividad de medicamentos usados para tratar la hipertensión. Un caso reporta reacciones adversas asociadas con el colorante Achiote (extraído de las semillas) que incluyeron: severa hipotensión y angioedema, dentro de los 20 minutos de la ingesta. Se podría deducir que el colorante de Achiote es una potencial causa rara de anafilaxia.

A nivel Dermatológico: Un caso reportado detalló reacciones adversas asociadas con el colorante Achiote que incluyó urticaria. También podría presentarse un eccema.

A nivel Endocrino: Basado en estudios con animales (ratas, ratones y perros), el Achiote podría alterar los niveles de glicemia e insulina.

A nivel Renal: Algunos individuos pueden ser altamente sensibles al Achiote y a bajas dosis puede ocurrir un efecto diurético, como por comer un paquete de pop corn en el cual el Achiote haya sido usado como colorante o ingrediente saborizante.

1.4.3.10. Advertencias/Precauciones/Contraindicaciones

Usar con precaución en pacientes con insuficiencia renal; puesto que al evaluar la toxicidad del polvo de Achiote en ratas machos y hembras Wistar a dosis de 2 000 mg/kg/día ocurrió apoptosis renal en un 20% de las ratas hembras tratadas.

Usar con precaución en pacientes que están tomando agentes mutagénicos, tal como: ciclofosfamida; a pesar de no encontrarse que el Achiote sea mutagénico ni inhibidor de mutaciones inducidas, altas dosis podrían incrementar el efecto de otros mutágenos, de acuerdo al estudio en ratones.

Usar con precaución en pacientes que toman diuréticos, a propósito de un caso que presume que el Achiote podría tener efectos diuréticos.

Usar con precaución en pacientes que están tomando agentes antihipertensivos, ya que el Achiote teóricamente podría potenciar los efectos antihipertensivos de este tipo de medicación.

Su aplicación en pacientes que se encuentran bajo un tratamiento basado en el consumo de elementos que se metabolizaron mediante el citocromo P-450, de acuerdo a la sugerencia planteada en una investigación, en la que se demostró la importancia que tienen los componentes del achiote en su forma de extracto sobre la inducción de CYP1A1.

El tratamiento de achiote no debe de ser aplicado en pacientes que tengan cuadros de diabetes debido a que la dosificación de hojas y semillas produce una variación en los niveles de insulina y azúcar en la sangre, ello se logró determinar después de una experimentación en roedores y perros.

Tampoco debe de ser aplicado sobre personas con hipersensibilidad o alergia al achiote, sus semillas o elementos pertenecientes a la familia Bixaceae, ello debido a que se reportó que un paciente sufrió de hipertensión severa, angioedema y urticaria después de ingerir cereales y leche cuyo contenido de fórmula incluía achiote.

La aplicación de achiote debe de evitarse en mujeres que se encuentren en estado gestación o lactancia, así mismo en el caso de los niños debe de dosificarse en menor cantidad de acuerdo a su edad siendo recomendable el consumo normal en su dieta. Debido a su utilización en la elaboración en diversos platos peruanos el achiote es seguro en cantidades moderadas y sin llegar a abusos en su consumo.

1.5. Hipótesis

El extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) al ser administrado por vía oral posee efecto diurético en ratas.

1.6. Objetivos

Objetivo general:

Determinar el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

Objetivos Específicos:

- 1) Obtener el extracto acuoso de las hojas *Bixa orellana* (achiote).
- 2) Realizar el estudio fitoquímico preliminar al extracto acuoso de las hojas *Bixa orellana* (achiote).

- 3) Evaluar el efecto diurético del extracto de las hojas *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo

La investigación es de carácter experimental-analítico, pre clínico *in vivo*, completo y aleatorizado.

2.1.2 Diseño

Debido a las características del estudio se aplica un diseño experimental por lo que se emplearon métodos estadísticos para determinar, medir y analizar cuales son las causales de los efectos hallados en la experimentación pre clínica *in vitro*. Las investigaciones experimentales son caracterizadas por la manipulación deliberada de una o más variables, en este caso aquellas que guardan relación con el efecto diurético.

2.2 Población y muestra

2.2.1 Población

- *Rattus rattus* var. *albinus* Cepa Holtzmann
- *Bixa orellana* (achiote).

2.2.2 Muestra

- 36 unidades de *Rattus rattus* var. *albinus* Cepa Holtzmann
- 1Kg de Hojas de *Bixa orellana* (achiote)

2.3. Técnicas e instrumentos de investigación:

2.3.1. Obtención de las muestras vegetales.

Las hojas de achiote (*Bixa orellana*) son provenientes de un cultivo realizado en el centro Poblado de Cascajal, perteneciente al Distrito de Chimbote, ubicados dentro de la provincia de Santa y el departamento de Ancash.

2.3.2. Elaboración del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote).

El proceso de elaboración de estos extractos inicia con la selección, lavado y secado en horno de las hojas achiote (*Bixa orellana*), siendo que para su secado se utilizara un horno bajo una temperatura poco menor a los 40° C con aire circular, luego de ello se realizó la trituration de las hojas mediante el uso de un molino de mano hasta que estas hojas lleguen a ser polvo fino, el cual fue pesado y envasado en porciones de 100g para su utilización. Los 100g de polvo fueron extraídos por reflujo en un tiempo de 20 minutos para luego de ellos filtrarlos con el uso de una bomba de vacío. El resultado de este proceso es conocido como extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* o achiote.

2.3.3. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso de los pétalos de *Hibiscus rosa-sinensis* (cucarda).

La realización de un análisis fitoquímico del extracto obtenido fue en los laboratorios de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, ello mediante las reacciones de Dragendorff y Mayer (alcaloides), ácido sulfúrico alfa naftol (glicósidos), Burtranger (quinonas), ninhidrina (aminoácidos), gelatina (taninos), cloruro férrico (compuestos fenólicos) y Shinoda (flavonoides) (Lock de Ugaz, 2016).

2.3.4. Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote). (Lipschitz, 1943)

Con el fin de evaluar cual es el efecto diurético sobre la muestra descrita previamente se emplearon a 36 *Rattus rattus* var. *albinus* cepa Holtzmann , cuya procedencia viene del Instituto Nacional de Salud, en sus características tenían un peso entre 180 g. con una variación de +/-20 g, para su acondicionamiento a la experimentación se les acondicionó un espacio en el Laboratorio de la Facultad de Medicina durante una semana, abasteciéndolas con alimentos balanceados (ratonina) y agua a libre disponibilidad; en cuanto a las condiciones del ambiente se les acondicionó a 25°C de temperatura en promedio, con una humedad relativa de entre 80 y 85% y un ciclo de

luz/oscuridad de doce horas. 18 horas previas a la experimentación a las ratas se les privó de alimento alguno, y tres horas antes se les quitó el agua que disponía como ayuno necesario para recolectar las muestras de orina y cuya condición siguió durante la experimentación. En la experimentación se emplearon cánulas metálicas para dar el tratamiento oral del extracto, al inicio con el fin de establecer un nivel salino uniforme se dio una administración de 25 ml/kg de solución fisiológica (NaCl al 0,9%) a la muestra total, pasada la media hora se realizó una separación aleatoria de seis grupos compuestos por 6 muestras cada una ($n=6$) sobre los cuales se distribuyeron los tratamientos: 1er grupo SSF 2mL/Kg, 2do grupo furosemida 10 mg/kg, 3er grupo hidroclorotiazida 200 mg/Kg y a los tres grupos restantes se les suministró dosis de 50, 250 y 500 mg/kg de extracto respectivamente, posterior al suministro cada una de las muestras fueron colocadas en una jaula de diuresis por un periodo de cinco horas tomándose datos de todas las unidades muestrales cada hora durante este periodo. Este procedimiento permite asegurar que los datos sean confiables dada la repetitividad de la dosificación en 6 muestras de similar característica.

Posterior a la recolección de datos se dio paso al cálculo de datos acerca de la aplicación de las dosis sobre los seis grupos mediante el uso de las siguientes fórmulas (Isea et al., 2013).

$$\% \text{ Excreción urinaria} = \frac{\text{Volumen de orina producida}}{\text{Volumen de solución fisiológica administrada}} \times 100$$

$$\% \text{ Actividad diurética} = \frac{\text{Volumen de orina del grupo tratado}}{\text{Volumen de orina del diurético estándar}} \times 100$$

2.4. Procesamiento y análisis de la información

El análisis de datos se inició mediante la elaboración de tablas y figuras con los datos recolectados en el laboratorio, posteriormente se realizó el análisis estadístico de la varianza y la aplicación de la estadística inferencial con un p valor menor de 0,05; el proceso estadístico se desarrolló en el software estadístico SPSS.

III. RESULTADOS

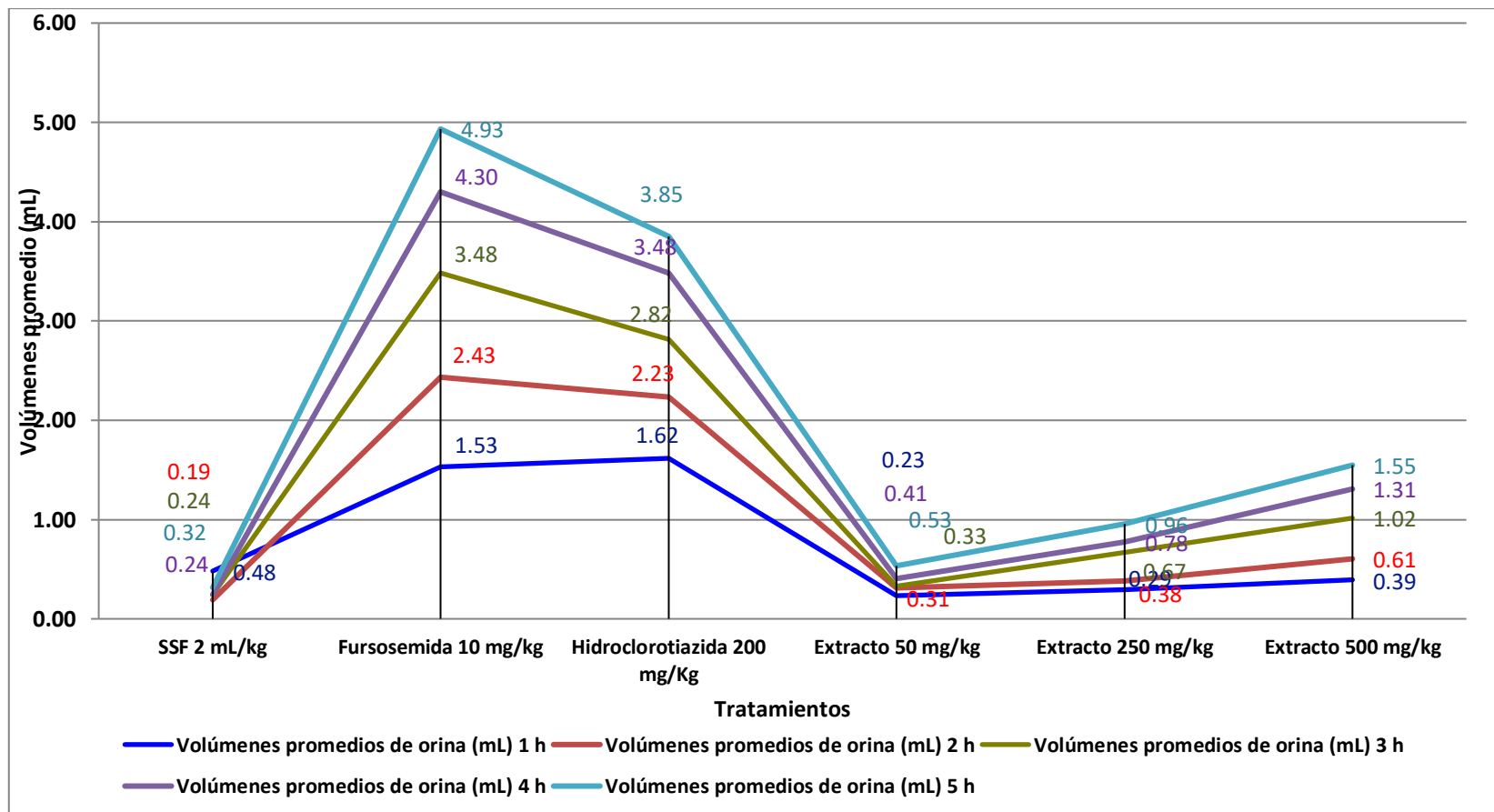
Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana*

Metabolito	Reacción	Cantidad
Carbohidratos	Molisch	+++
Azúcares Reductores	S.R. Benedict	+++
Taninos	Tricloruro de fierro al 1%	+++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	++
Flavonoides	Shinoda	++
Alcaloides	Dragendorff	++
Heterósidos antraquinónicos	Borntrager	+
Esteroides triterpénicos	Lieberman	+
Glicósidos	Vainillin Sulfurico	++

Leyenda: (+++) = *Abundante cantidad*; (++)=*Regular cantidad o positivo*, (+)= *Poca cantidad o trazas*; (-)=*Ausencia*.

Fuente: Elaboración propia

Figura 1. Valores promedios de los volúmenes de orina recolectados durante las cinco primeras horas al evaluar el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.



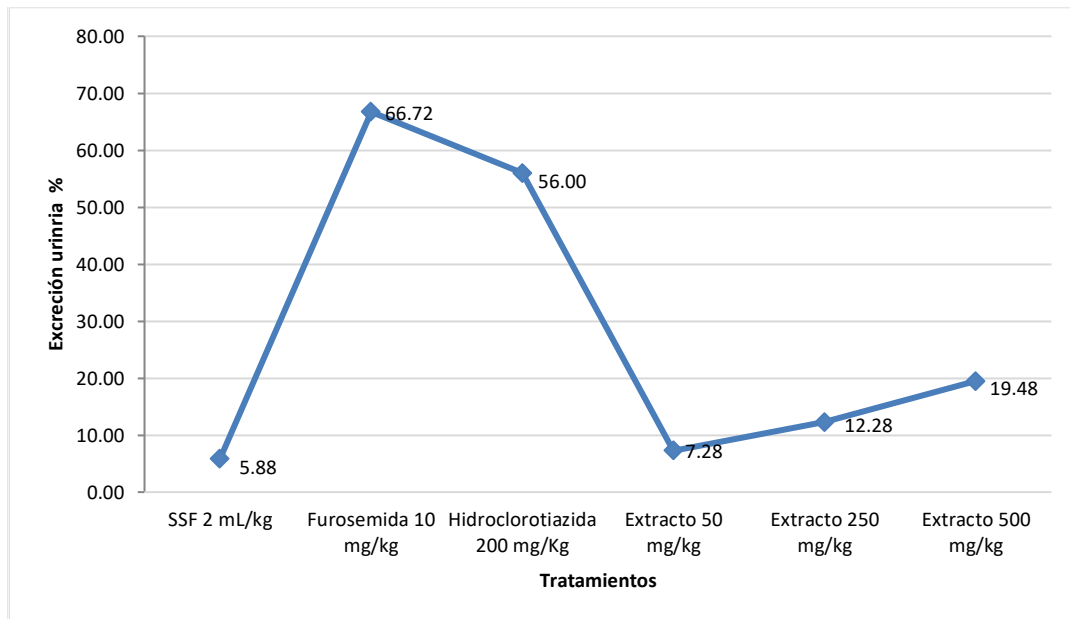


Figura 2. Porcentajes de excreción urinaria al evaluar el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

Fuente: Elaboración propia

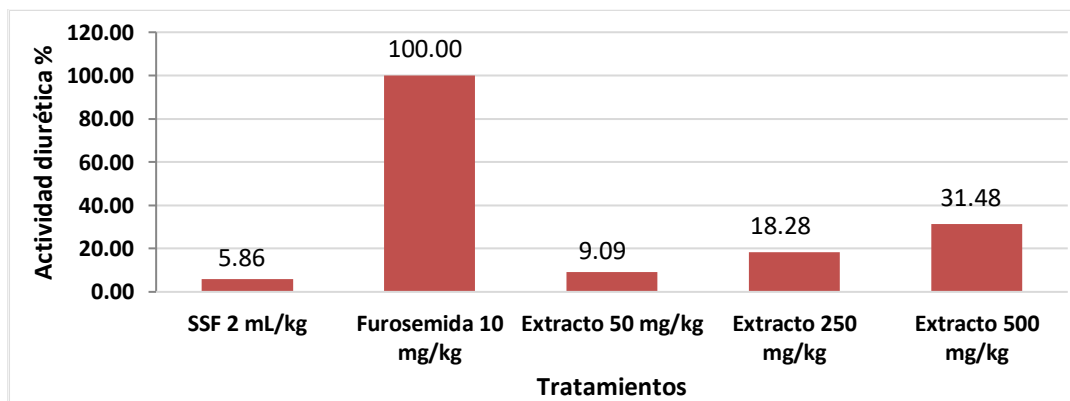


Figura 3. Porcentajes de actividad diurética del extracto frente a furosemida, al evaluar el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

Fuente: Elaboración propia

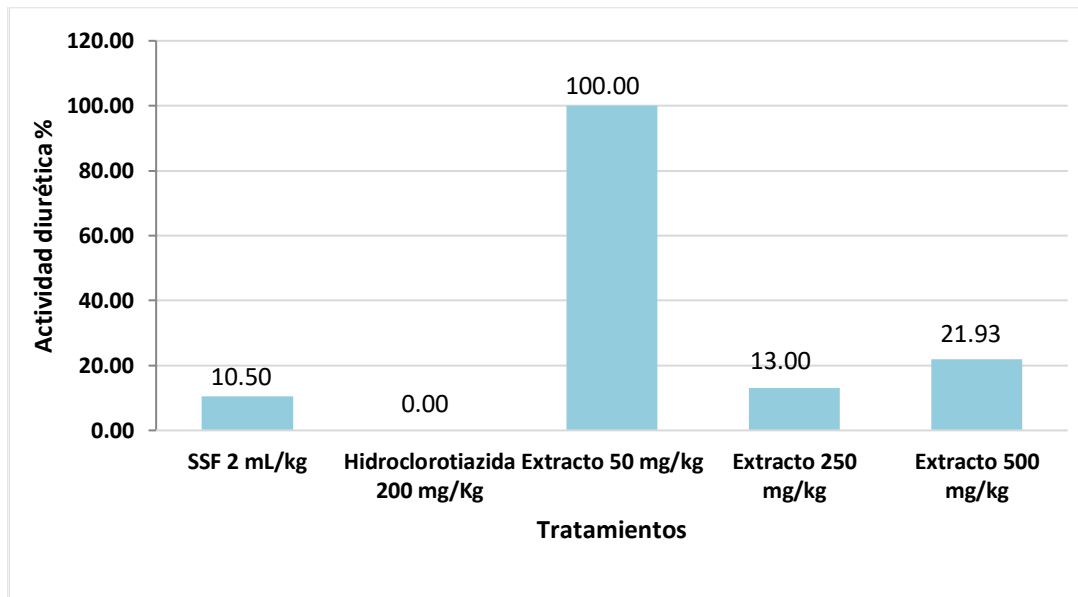


Figura 4. Porcentajes de actividad urinaria del extracto frente a hidroclorotiazida al evaluar el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

Fuente: Elaboración propia

IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 evidencia que en el extracto acuso de hojas de achiote (*Bixa orellana*) se encuentran contenidos metabolitos secundarios, dada la existencia de taninos, azúcares reductores y carbohidratos en mayores cantidades, mientras que en cantidades regulares se hallaron glicósidos, alcaloides, flavonoides y aminoácidos libres, finalmente los elementos encontrados en mínima cantidad fueron los esteroides triterpénicos y los heterósidos antraquinónicos.

La presentación del efecto del extracto sobre el volumen de la excreción de orina se muestra de acuerdo a los tiempos tomados en intervalos de 1 hora en la figura 1, evidenciándose la obtención de 4,87 mL tras la aplicación de 500mg/kg del extracto, análogamente se considera una dosis dependiente debido a que se logró identificar que a medida que va transcurriendo el tiempo se incrementa el volumen de orina teniendo una tendencia a imitar los valores indicados en el estudio de Coaquira (2016), quien manifiesta que la aplicación ciertos fármacos de manera controlada provocan una excreción de 14 mL en el caso de la hidroclorotiazida y 16,68mL en el caso de la furosemida.

En cuanto a la figura 2, se realiza la exposición de los porcentajes de excreción de la orina tras la aplicación del extracto acuoso de hojas de achiote (*Bixa orellana*); en esta figura se aplicó 500mg/kg de dosis obteniéndose una excreción de orina del 19,48% teniéndose que en el caso de la hidroclorotiazida un 56% mientras que la furosemida dio un 66,72%.

La figura 3 presenta los efectos de la aplicación de la dosis de extracto acuoso de hojas de achiote (*Bixa orellana*) sobre los valores de la actividad diurética, hallándose un 10,91% tras la aplicación del extracto de 50mg/kg, un 18,41% en la aplicación del extracto de 250mg/kg y 29,20% tras la aplicación del extracto de 500mg/kg, mientras que tras la aplicación de furosemida se tuvo un 100%; así mismo la figura 4 muestra la actividad diurética tiene un porcentaje del 13% en la aplicación del extracto de 50mg/kg, 21,93% en la aplicación del extracto de de 250mg/kg, 31,79% en la aplicación del extracto de 500mg/kg mientras que en la aplicación farmacológica de la hidroclorotiazida se obtuvo un 100%.

Los metabolitos secundarios como antocianósidos, flavonoides y saponósidos, desempeñan un rol eficiente como capilarotropos y vasoprotectores, ello debida a su actuación en los túbulos proximales y distales así como su participación en inhibición en la absorción del sodio dentro de la ascendente en el asa de Henle. Los agentes acuaréticos se caracterizan por incrementar la diuresis el riego sanguíneo mediante su participación, siendo en el caso de las plantas diuréticas una intervención a nivel del glomérulo. Sin embargo, aquellas plantas con alto contenido de potación pueden provocar una eliminación de las sales debido al efecto osmótico, es así que la mayoría de las plantas diuréticas son empleadas para reducir el volumen y eliminar a los gérmenes que propician la sepsis urinaria, de la misma manera que los trastornos vasculares que influyen sobre la mejora del sistema circulatorio (Villegas et al., 2009).

Los efectos hallados tienen mecanismos de acción bastante parecidos al de la furosemida dado que actúan mediante el bloqueo en el asa de Henle, específicamente en la bomba dentro la rama gruesa ascendente y que co-transporta Na-K-2Cl, de esta manera se da la alteración dentro de las células que se ven influenciadas produciendo cambios en la circulación de líquidos e iones, el efecto diurético surge por el aumento de excreción de cloruro, potasio y sodio, lo cual produce que el agua sea contaminada y se de este efecto. Adicional a ello se halló que las células pueden ver alterado su proceso de transporte de Mg² y Ca²⁺ debido a la alteración del potencial eléctrico celular, así mismo se establece que en las células inflamatorias, epiteliales y las que se encuentran en la vía neurológica colinérgica pueden ser inhibidas en el co-transporte de anhidrasa carbónica o el cotransportador Na-K-2Cl. En el caso de la furosemida, esta es sirve para bloquear a los receptores GABA-A cuya condición es de glucuronidación o viene antagonizando de manera reversible flujos evocados de GABA-a62 (Machín, 2011).

V. CONCLUSIONES

- Se logró obtener el extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote).
- Se realizó el estudio fitoquímico preliminar al extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana*. (achiote), encontrándose la presencia de carbohidratos, azúcares reductores y taninos en abundante cantidad, aminoácidos libres, flavonoides, alcaloides y glicósidos en regular cantidad, heterósidos antraquinónicos y esteroides triterpénicos en poca cantidad.
- Se evaluó el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) obteniendo mayor diuresis con extracto a dosis de 500 mg/kg, con un volumen urinario de 4,87 mL, porcentaje de excreción

urinaria 19,48% y porcentaje de actividad diurética de 29,20% frente a furosemida y 34,79% frente a hidroclorotiazida.

- Se concluye que el extracto de acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote), posee efecto diurético en *ratas*.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios con otras partes vegetales de la muestra en estudio y con la totalidad de la planta.
- Realizar ensayos con extractos con otros solventes que permitan extraer metabolitos de diversas polaridades.
- Evaluar el extracto utilizando otras vías de administración.
- Evaluar el efecto diurético utilizando otro modelo experimental.
- Realizar estudios de seguridad, que permitan aplicar este producto natural en investigaciones de tipo clínico.

VII. AGRADECIMIENTO

A DIOS, y a la Virgen María, quienes nos inspiraron para la conclusión de esta tesis.

A nuestros padres quienes nos dieron la vida, educación, apoyo y consejos.

A mis compañeros de estudio, a mis maestros y amigos, quienes sin su ayuda nunca hubiera podido hacer esta tesis.

A todos aquellos que no creyeron en nosotros, a aquellos que esperaban nuestro fracaso en cada paso que dábamos hacia la culminación de nuestros estudios, a aquellos que nunca esperaban que lográramos terminar la carrera, a todos aquellos que apostaban a que nos rendiríamos a medio camino, a todos los que supusieron que no lo lograríamos, a todos ellos les dedico esta tesis.

.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adam, Y., Somchit, M.M., Sulaman, M.R., Nasaruddin, A.A. (2009). Diuretic properties of *Orthosiphon Stamineus* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*. 124:154-8.

Aguilar, D. (2019). Determinación de actividades biológicas y tamiz fitoquímico de *Bixa orellana* L de la Península de Yucatán. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad de Sonora: <http://148.225.114.120/bitstream/unison/2153/1/aguilargonzalezdoloresiselal.pdf?fbclid=IwAR0S9926vsSxJa8RwFVuVas32ltqJBFqMJcsoZCF-Icp2XyaFTJve2vs-pM>

- Alegria, S. S. (2017). Evaluación de la actividad cicatrizante, en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de *Bixa orellana* L. (Achiote), *Ocimum campecheanum* Mill. (Albahaca de monte) y *Aloe vera* L. (Sábila).
- Alvarado, M. M. (2021). Determinación de Metabolitos Secundarios de hojas de once morfotipos de *Bixa orellana* L. por métodos espectrofométricos. Iquitos, Perú. Obtenido de https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/7236/Melanye_Tesis_Titulo_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Álvarez, G., Fernández, I., Rodríguez, I. E. (2008). Efecto diurético del extracto acuoso de pericarpio de melón (*Cucumis melo* L). Variedad *reticulatus* Naud) en ratas. *Rev Cubana Plan Med.*
- Ambar, B. M. (2019). Toxicidad oral a 30 días del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) en ratas. Obtenido de http://publicaciones.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/14096/Tesis_64411.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bejar, M.. (2017). Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” en ratas albinas. 83.
- Botanical (2020) Propiedades del achiote. Recuperado 11 de noviembre en: <https://www.botanical-online.com/plantas-medicinales/achiote-bixa-orellana-propiedades>

Bonifaz, N., Muñiz, L. (2018) Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de la *Persea americana* Mill “palta fuerte” Tesis para optar el Título Profesional de Químico farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica. Universidad Norbert Wiener, Lima-Perú.

Camacaro, J. (2018). A liposoluble colorant from Annatto seeds (*Bixa Orellana* L.) as an input for food industry. *Revista Ingeniería UC*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/707/70757669017/70757669017.pdf>

Castillo, E. (2007). *Manual de fitoterapia.*, Barcelona-España., Elsevier Masson. Pp. 57-63, 69

Cerruti, T; Nina, E; Nonato, L; Gorriti, A; Villacrés, J; Ríos, F y Mestanza, M (S.F). Estudio preclínico de la *Bixa Orellana* L. Perú. Recuperado el 12 de noviembre en: <https://aprenderly.com/doc/501693/estudio-pre-cl%C3%ADnico-de-la-bixa-orellana>

Coaquira, B. (2016). Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Caecaria engleriana* Kranzlin Feddes Repert. "wawillay" en cobayos. Ayacucho. UNSCH. Tesis para optar Título profesional de Químico Farmacéutico.

Compounds isolated from *Bixa orellana*: evidence-based advances to treat infectious diseases. (15 de June de 2020). *Revista Colombiana de*

Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 49(3), 581-601.
doi:<http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v49n3.91247>

CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.

Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación, 220.

Daud, A., Habit, N., Sánchez, A. (2007). Actividad diurética de extractos acuoso de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). *Rev Cubana Plan Med.*

Donald, C. (2008). *Essentials of Pharmaceutical Chemistry.*, 3ra ed., Londres-Inglaterra., Pharmaceutical Press. Pp 62

Felipe-G, A., García-S, G., Scull- L, R., Herrera-L, Y., & Fernández-V, Y. (2011). Efecto diurético de los extractos acuosos y secos de *caesalpinia bahamensis* lam (brasilete) en ratas wistar. *Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA*, 3(2), 300-308.

Flórez, J., Armiño, J. (2003). Fármacos diuréticos. En: Flórez J. *Farmacología humana*. Barcelona: Masson. p. 835-49.

Gatsou, B. (2020). Anti-oxidant and anti-inflammatory potential of aqueous extracts of leaves, barks and roots of *Bixa orellana* L. (Bixaceae) on acetaminophen-induced liver damage in mice. *Avicenna Journal of Phytomed (AJP)*, 10(4), 428-439. Obtenido de ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7430966/pdf/AJP-10-428.pdf

- Galván, C. A. (2019). EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA HOJA DE *Bixa orellana* L. SOBRE *Salmonella typhi* ATCC 167 COMPARADO CON AZITROMICINA. Trujillo.
- García, N. (1995). Saber y hacer sobre plantas medicinales. Ciudad de la Habana, Cuba.
- García, A. (2018). Evaluación de la actividad antidiarreica del extracto acuoso de las hojas de Achiote (*Bixa Orellana*) en ratas albinas, cepa Holtzman. Lima, Perú: Universidad Inca Garcilazo de la Vega.
- Gasparotto, A., Aurelio, M., Botelho, E. L. (2009). Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majos* (tropaeolaceae) in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 122:517-22.
- Granda, M., FUENTES, V., ACOSTA, L., IVANOV, V. (1982). Perspectivas de utilización en gran escala de plantas medicinales en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*1:7-24.
- Habib, N., Daud, A. & Sánchez, A. (2005). Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10(3-4)
- Hilal-Dandan, R., Brunton, L., editors. Goodman & Gilman (2015). Manual de farmacología y terapéutica. 2ª ed. México: McGrawHill-Interamericana

- Isea, G., Rodríguez, I., Gil, M., Sánchez, E. Efecto diurético del extracto acuoso de pericarpio de melón (*Cucumis Melo L* variedad *reticulatus* Naud) en ratas. *Rev Cubana Plant Med.*2008. (13).2
- Kokate, C. K., Purohit, A. P., Gokhale, S. B. (2015). *Pharmacognosy*, Nirali Prakashan, 51th edition, pp. 7.16-7.18
- Lipschitz, W.L, Hadidian. Z., Kerpcsar, A (1943) Bioassay of diuretics. *J Pharmacol Exp Ther* 79:97–110
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales.* 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.
- Machín, M et al. (2011). Validation of an in vivo method to assess the diuretic activity. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas.* 30:332-344.
- Medina, J. & Minaya, R. (2019). Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana L.* sobre heridas superficiales en ratones albinos.
- Medina, D. (2015) Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de *Bixa orellana l.* (achiote) sobre cepas de *streptococcus mutans* (atcc 25175) y *streptococcus sanguinis* (atcc 10556). Tesis para obtener el título de cirujano dentista. Universidad Peruana de ciencias aplicadas. Lima – Perú.
- Mestanza, M. N. (2018). Afinidad tintorial del Achiote (*Bixa orellana*) al 5%, en reemplazo de la Eosina en la técnica de coloración Hematoxilina-

Eosina, en tejidos de hígado de ovino-Cajamarca. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Cajamarca: <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/3389?fbclid=IwAR1OVtKhlrjAZs3J-Af-f2IHCjuNlwJPY39koIXxWlbCHOyztHr6RSUZDY>

Molina, K. (2017). Uso de disoluciones de Bixa Orellana (achiote) como revelador natural de placa dental frente a revelador convencional estandarizado. 104.

Motta, L., Paucar, S. (2019). Toxicidad oral a 30 días del extracto etanólico de las hojas de Bixa orellana L. (achiote) en ratas. 44.

Mudge, G. (1994). Diuréticos y otros agentes empleados en el tratamiento del edema. En: Goodman A, Goodman LS, Gilman A, Mayer SE. Las bases farmacológicas de la terapéutica. La Habana: Científico Técnica; 1994. p. 840-73.

Murillo, M. R. (2019). Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de achiote (bixaorellana) sobre cepas de streptococcus mutans. Quito.

Naranjo, A. (2013). Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivada en Pomona Pastaza Ecuador. Tesis de grado previa la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico escuela superior politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador.

- Nasimba, G. N. (2019). Extracción de colorantes en *Bixa orellana* L. (achiote) y su aplicación en formas farmacéuticas líquidas. REPOSITORIO DIGITAL. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18817>
- Nicandro, P. (2008). Farmacología médica., México DF-México., Medica panamericana. Pp 529-531
- Noriega, A. (2015). Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia* (lima). Tesis para optar al grado de Químico Farmacéutico. Universidad San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias químicas y Farmacia. Guatemala.
- Oré, J. (2015). Efecto diurético y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Aeonium arboreum* (L). Webb. & Berth. "rosa verde" en *Cavia porcellus* "cobayo". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela profesional de Farmacia y bioquímica. Ayacucho Perú-2015.
- Pérez, Machín., Maykel, Sueiro., Mario, L., de la Cruz, Ania., Boffill, María., Morón, Francisco., Méndez, Orestes., & Cárdenas, Jaqueline. (2011). Uso tradicional de plantas medicinales con acción diurética en el Municipio de Quemado de Güines, Cuba. *Revista de Biología*

Tropical, 59(4), 1859-1867. Retrieved October 16, 2019, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442011000400035&lng=en&tlng=en.

Ríos, S. N. (2018). Evaluación del pigmentante natural Bixa orellana I. (Achiote) en la dieta de pollos de engorde en el cantón Morona. Obtenido de Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba.: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/8526/1/17T1537.pdf?fbclid=IwAR2Q->

Rosales, M. (1994). Los diuréticos: aspectos básicos y clínicoterapéuticos., Caracas-Venezuela., Med-ULA. Pp 75 -78

Romero, K. (2017). Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de la hoja de Bixa orellana de la provincia de Zamora Chinchipe. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Técnica Particular de la Loja:
http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/20.500.11962/20993/1/Romero%20Bravo%2c%20Karen%20Andrea.pdf?fbclid=IwAR3yf4PMNsZuE4M7S53FUtUZ80XQekMzctkLHDWplbKeEr6bXgM_mAiHFCw.

- Tambe, V., Bhambar, R. (2016). Estudios sobre diuréticos y actividad laxante del *Hibiscus tiliaceus* Linn. Extractos de corteza International Journal of PharmTech Research. 9(2), 2016, páginas 305-310. India
- Villegas, E., Marino, C., Novoa, L., Tito, A., Rospligliosi, R., Sánchez, C., Segura, J., Lupinta, V., Sialer, L., Segovia, A., García, M., Salazar, A., Loja, B., Alvarado, A. (2009). Actividad dosis respuesta sobre la motilidad intestinal in vivo e in vitro del extracto de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi). Lima, Perú: Catálogo de Investigaciones, Instituto de Investigación, FMH-USMP.
- Viteri, J. (2018). Efecto antifúngico del extracto metanólico de las hojas de achiote (*Bixa orellana* L) sobre láminas de acrílico contaminadas de *Candida albicans*. estudio In vitro.
- Viteri, J. A. (2018). Efecto antifúngico del extracto metanólico de las hojas de achiote (*bixa orellana* l.) sobre láminas de acrílico contaminadas de *candida albicans*. Estudio in vitro. repositorio digital. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15069>
- Wiki herbolaria (2020) Achiote. Recuperado el 11 de noviembre en: <https://herbolaria.fandom.com/wiki/Achiote>
- Yovera, V. (2019) Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) en *Rattus rattus* var *albinus* con hepatotoxicidad

inducida. Tesis para obtener el título de químico farmacéutico.

Universidad católica los Angeles de Chimbote. Trujillo – Perú.

IX. ANEXOS Y APENDICES

Anexo 1. Tabla de recolección de datos de los volúmenes urinarios

N°	Tratamientos	volúmenes de orina (mL)				
		1h	2h	3h	4h	5h
1	SSF 2 mL/Kg	0,6	0,15	0,19	0,24	0,3
2	SSF 2 mL/Kg	0,5	0,2	0,3	0,23	0,31
3	SSF 2 mL/Kg	0,3	0,2	0,23	0,25	0,32
4	SSF 2 mL/Kg	0,1	0,2	0,24	0,27	0,3
5	SSF 2 mL/Kg	0,9	0,15	0,2	0,23	0,32
6	SSF 2 mL/Kg	0,8	0,25	0,3	0,32	0,34
7	Furosemida 10 mg/Kg	1,4	2,8	3,7	3,9	4,8
8	Furosemida 10 mg/Kg	1,5	2,2	3,5	4,2	4,6
9	Furosemida 10 mg/Kg	1,7	2,4	4	4,4	5,2
10	Furosemida 10 mg/Kg	1,9	2,7	3,5	5	5,2
11	Furosemida 10 mg/Kg	1,3	2,3	3,3	4,5	4,8
12	Furosemida 10 mg/Kg	1,4	2,2	2,9	3,8	5
13	Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	1,4	2,1	2,7	3,3	3,8

14	Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	1,5	2,4	3,1	3,7	4
15	Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	1,7	2,3	3	3,9	4,2
16	Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	1,9	1,9	2,5	3,5	4
17	Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	2	2,8	3,2	3,8	3,9
18	Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	1,2	1,9	2,4	2,7	3,2
19	Extracto 50 mg/kg	0,3	0,4	0,3	0,38	0,5
20	Extracto 50 mg/kg	0,3	0,5	0,4	0,43	0,52
21	Extracto 50 mg/kg	0,2	0,37	0,35	0,42	0,53
22	Extracto 50 mg/kg	0,2	0,28	0,34	0,46	0,5
23	Extracto 50 mg/kg	0,2	0,19	0,28	0,39	0,45
24	Extracto 50 mg/kg	0,2	0,19	0,31	0,36	0,7
25	Extracto 250 mg/kg	0,3	0,41	0,6	0,7	0,9
26	Extracto 250 mg/kg	0,35	0,36	0,7	0,68	0,75
27	Extracto 250 mg/kg	0,25	0,37	0,6	0,75	0,9
28	Extracto 250 mg/kg	0,25	0,34	0,7	0,9	1
29	Extracto 250 mg/kg	0,3	0,39	0,6	0,79	1,2
30	Extracto 250 mg/kg	0,3	0,4	0,8	0,83	1
31	Extracto 500 mg/kg	0,35	0,5	0,9	1,15	1,3
32	Extracto 500 mg/kg	0,4	0,55	0,9	1	1,4
33	Extracto 500 mg/kg	0,35	0,6	1	1,2	1,5
34	Extracto 500 mg/kg	0,35	0,63	1,2	1,5	1,6
35	Extracto 500 mg/kg	0,4	0,7	1,2	1,6	1,8
36	Extracto 500 mg/kg	0,5	0,65	0,9	1,4	1,7

Anexo 2. Valores medios de volúmenes urinarios al evaluar el efecto diurético del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

Tratamientos	Volúmenes promedios de orina (mL)				
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
SSF 2 mL/kg	0,48	0,19	0,24	0,24	0,32
Furosemina 10 mg/kg	1,53	2,43	3,48	4,30	4,93
Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	1,62	2,23	2,82	3,48	3,85
Extracto 50 mg/kg	0,23	0,31	0,33	0,41	0,53
Extracto 250 mg/kg	0,29	0,38	0,67	0,78	0,96
Extracto 500 mg/kg	0,39	0,61	1,02	1,31	1,55

Anexo 3. Valores de excreción urinaria y actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

Tratamiento 5 hora	vol (mL)	Excreción urinaria %	actividad diurética (%)	
			Furosemina	Hidroclorotiazida
SSF 2 mL/kg	1,47	5,88	8,81	10,50
Furosemina 10 mg/kg	16,68	66,72	100,00	
Hidroclorotiazida 200 mg/Kg	14,00	56,00		100,00
Extracto 50 mg/kg	1,82	7,28	10,91	13,00
Extracto 250 mg/kg	3,07	12,28	18,41	21,93
Extracto 500 mg/kg	4,87	19,48	29,20	34,79

Anexo 4. Jaula metabólica, donde se mide la diuresis del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas.

