



**FITOQUIMICA PRELIMINAR, TOXICIDAD AGUDA ORAL Y DIURESIS DEL
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS SEMILLAS DE *Jatropha curcas* L.
(EUFORBIÁCEAE)**

**JULIO ALBERTO BOHÓRQUEZ MERCADO
RUDY JAIR GONZÁLEZ OLIVERA**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN BIOTECNOLOGÍA
SINCELEJO-SUCRE
2003**

**FITOQUIMICA PRELIMINAR, TOXICIDAD AGUDA ORAL Y DIURESIS DEL
EXTRACTO ETANOLICO DE LAS SEMILLAS DE *Jatropha curcas L.*
(EUFORBIÁCEAE)**

**JULIO ALBERTO BOHÓRQUEZ MERCADO
RUDY JAIR GONZÁLEZ OLIVERA**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de
Biólogo con énfasis en Biotecnología

Directora
RITA LUZ MÁRQUEZ VIZCAÍNO
Q.F, M.Sc Biología enf. Fitoquímica

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
SINCELEJO-SUCRE
2003**

*Los criterios expuestos, las cpiniones expresadas y las conclusiones anotadas son de única y exclusiva responsabilidad de los autores y no comprometen en nada a la **Universidad de Sucre** (artículo 12 del reglamento de trabajos de grado)*

DEDICATORIA

A Dios por todo.

A mis padres, Julio, Melba por con fiar en mi, apoyarme en todos los momentos de mi vida y por todo aquello que nunca voy a poder pagarles.

A mis hermanos: Mauricio y Karelis quienes han sabido fortalecerme con su cariño.

A mis abuelos Tulia, Sof, Manuel que gracias a sus valiosos consejos he crecido

A familiares, tíos, primos, amigos que han sabido entusiasmarme y acompañarme en los caminos de la vida.

A las memorias de mi abuelo Juan Bohórquez y tío Donísso Mercado quienes en vida supieron darme cariño, regocijo y ejemplo.

A todas aquellas personas que con su aprecio, nobleza y cariño me impulsaron a salir adelante.

Reciban estas sencillas palabras con el mas sincero sentimiento y aprecio, que me permite homenajearlos...

JULIO ALBERTO

DEDICATORIA

A mi padre celestial, por su sabiduría y su inmenso amor.

A mis padres Luz Marina y Miguel Ángel, por su invaluable amor y cariño

A mis hermanos Liana, Leidy, René y Álvaro, por estar siempre presente y brindarme su cariño y respeto.

A mis tíos, primos y abuelos por su cariño y consejos e impulsarme a seguir adelante.

A Fried Deelen por brindarme la mano cuando mas lo necesitaba.

A mi profesora Rita Márquez, por sus consejos, colaboración y por confiar en mi.

Con cariño de

RUDY JAIR

AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo expresan su más ferviente agradecimiento a:

- **RITA LUZ MÁRQUEZ VIZCAÍNO**, Químico farmacéutico MSc, docente de planta de la Universidad de Sucre, directora de este trabajo de investigación, por sus valiosas indicaciones y consejos.
- **MIGUEL ÁNGEL TORRES**, Toxicólogo, Docente Titular del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional, por sus valiosas aclaraciones e indicaciones.
- **EL GRUPO DE INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE SUCRE (GIFUS)** por su gran colaboración.
- **RUBÉN DARÍO TORRENEGRA**, Químico de Productos Naturales, Docente de la Pontificia Universidad Javeriana, Director del Grupo de investigación (GIFUJ) por su cooperación.
- **EL GRUPO DE INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA** por su gran colaboración.
- **ARTURO DONCEL**, Auxiliar de laboratorio de la Universidad de Sucre y actual auxiliar del laboratorio de Microbiología de la Universidad, por su valiosa colaboración.
- **ÁLVARO AYALA**, Químico, Docente titular del departamento de química de la Pontificia Universidad Javeriana, por su valiosa colaboración en el manejo del equipo de absorción atómica.
- **JAIRO BUSTILLOS**, Histopatólogo, Docente Titular del Departamento de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana por su colaboración en el análisis histopatológico de las muestras de órganos.
- **ÁLVARO GRANADOS**, Químico, Magíster en Biología de la Pontificia Universidad Javeriana, por su gran colaboración.

- **LOS AUXILIARES DEL BIOTERIO DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA Y DEL DEPARTAMENTO DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL**, por su valiosa cooperación.
- **JAIME BERNAL CASTILLO**, Director del departamento de química de la Pontificia Universidad Javeriana, por su colaboración.
- **DARY LUZ MENDOZA**, Jefe del Departamento de Biología de la Universidad de Sucre, por su colaboración.
- **JAIME ROJAS**, Director del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional, por su cooperación.
- Los compañeros y amigos: Aydeé, Noelba, Danys, Licet, Jahir, Jorge, Giovanni, Angelina, Claudia, Dalgis, Hernán... por su compañía y apoyo.
- Rosalba, Trabajadora de la Pontificia Universidad Javeriana, compañeras de laboratorio: Catalina, Luz, Libia, Lida... por su amabilidad y hospitalidad.
- Jorge Narváez "El pibe", auxiliar de "deposito Departamento de Química" de la Pontificia Universidad Javeriana por su colaboración y cooperación.
- **UNIVERSIDAD DE SUCRE, FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA.**
- **UNIVERSIDAD NACIONAL, DEPARTAMENTO DE FARMACIA.**
- **PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**
- **EL CUERPO DOCENTE DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SUCRE.**
- **Oscar Vergara**, Profesor de la Universidad de Sucre, por su colaboración.
- *Napralert*, Maria Low Quinn, por colaboración e información bibliografica.
- Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo de investigación.

ABREVIATURAS

μ : Micra	Kg : Kilogramos
Å : Ångstrom	nm : Nanómetros
O^d : Oreja derecha	mm : Milímetros
P^d : Pata derecha	Na⁺ : Sodio
M^d : Mano derecha	K⁺ : Potasio
C : Cola	Ca²⁺ : Calcio
P^l : Pata izquierda	EtOH : Etanol-etanolico
min. : minuto	H₂O : Agua-acuoso
seg. : Segundo	Ext. : Extracto
g : Gramos	DL₅₀ : Dosis letal media
mAmp : Miliamperios	mL : Mililitros
ip : dosificación intraperitoneal	% : Por ciento
< : menor de	MIC : Concentración mínima inhibitoria
Et.OAc : acetato de etilo	IC : Concentración inhibitoria
Conc. : concentración	Di : Dosis a inocular
LC₅₀ : concentración letal media	W : Peso del animal
MeOH : metanol- metanólico	D1 : dosis uno(20 mg/Kg de extracto)
CHCl₃ : Cloroformo- clorofórmico	D2 : dosis dos(200 mg/Kg de extracto)
CH₂Cl₂ : Diclorometano	P : Patrón (furosemida)
p.p.m. : Partes por millón	B : Blanco (vehículo)
H : Horas	
mg : Miligramos	
m.s.n.m : Metros sobre el nivel del mar	

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ESTADO DEL ARTE.....	3
2.1 Descripción Botánica De La Planta.....	3
2.2 Distribución Geográfica De La Planta.....	3
2.3 Usos Etnomédicos.....	5
2.4 Química.....	8
2.5 Generalidades Sobre El Protocolo Para La Evaluación De Toxicidad Aguda Oral De Productos Naturales.....	11
2.5.1 <i>Producto de prueba y animales de experimentación.....</i>	<i>11</i>
2.5.2 <i>Niveles de Dosificación.....</i>	<i>12</i>
2.5.3 <i>Periodo de Exposición.....</i>	<i>13</i>
2.5.4 <i>Periodo de Observación.....</i>	<i>13</i>
2.5.5 <i>Examen Clínico Patológico.....</i>	<i>13</i>
2.5.6 <i>Examen Macroscópico.....</i>	<i>15</i>
2.4 Generalidades Sobre Actividad Diurética.....	15
2.6.1 <i>Función Renal.....</i>	<i>15</i>
2.6.2 <i>Fisiología Renal y Mecanismos de Acción de Diuréticos.....</i>	<i>15</i>
2.6.2.1 <i>Función Principal de los Diuréticos.....</i>	<i>17</i>
2.6.2.2 <i>Efectos.....</i>	<i>17</i>
2.6.2.3 <i>Causa de Efectos.....</i>	<i>18</i>
2.6.2.4 <i>Mas Eficaces.....</i>	<i>18</i>
2.6.2.5 <i>Menos Eficaces.....</i>	<i>18</i>
2.6.2.6 <i>Diurético Ideal.....</i>	<i>18</i>
2.6.2.7 <i>Electrolitos.....</i>	<i>18</i>
2.6.2.8 <i>Diuréticos de Asa.....</i>	<i>19</i>
2.6.2.9 <i>Mecanismos de Acción.....</i>	<i>19</i>
2.6.2.10 <i>Furosemida.....</i>	<i>19</i>
2.4 Fundamento Del Método De Emisión Atómica.....	19

3	METODOLOGÍA.....	21
3.1	Material Vegetal.....	21
3.1.1	Clasificación Taxonómica.....	21
3.2	Recolección Y Preparación Del Material Vegetal.....	21
3.3	Obtención De Los Extractos.....	23
3.4	Protocolo Realizado Para La Evaluación De La Toxicidad Aguda Oral Del Extracto Etanólico De Las Semillas De <i>Jatropha curcas</i> L.....	26
3.4.1	Animales de Experimentación.....	26
3.4.2	Administración.....	26
3.4.3	Periodo de Observación.....	27
3.4.4	Análisis Histopatológico.....	27
3.4.4.1	Conservación y tratamiento de los órganos.....	27
3.4.4.2	Procesamiento General del Tejido.....	27
3.5	Protocolo Realizado Para La Evaluación De Diuresis Del Extracto Etanólico De <i>Jatropha curcas</i>	29
3.5.1	Animales de Experimentación.....	29
3.5.2	Administración.....	29
3.5.3	Colección de Muestras.....	30
3.5.4	Determinación de los niveles de Electrolitos (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺) en las muestras de orina colectadas.....	30
4	RESULTADOS.....	32
4.1	Fotoquímica Preliminar.....	32
4.2	Toxicidad Aguda Oral.....	35
4.2.1	Peso de los Animales Tratados.....	35
4.3	Macro e Histopatología de las ratas Tratadas.....	38
4.3.1	Hígado.....	38
4.3.2	Riñón.....	39
4.3	Diuresis.....	42
5	DISCUSIONES.....	52
5.1	Fotoquímica Preliminar.....	52
5.2	Toxicidad Aguda Oral.....	52
5.3	Actividad Diurética.....	53

6	CONCLUSIONES.....	55
7	RECOMENDACIONES.....	56
8	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	58
	ANEXOS.....	67

1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemorables el hombre primitivo debió adquirir conocimientos que le fueran útiles al determinar cuales plantas poseían valor alimenticio y cuales podrían ser venenosas; los poderes curativos de ciertas hierbas, jugos, raíces, hongos, entre otros indudablemente se descubrieron por accidente. Una vez estos atributos fueron conocidos se transmitieron de generación en generación mediante manuscritos, cuentos, leyendas y creencias.

En Colombia, particularmente en los pueblos de la región caribe, es una tradición la utilización de plantas con fines medicinales, es así como de nuestros abuelos y tatarabuelos conocemos un sin número de remedios, con base en plantas que efectivamente son terapéuticas en el tratamiento de diversas enfermedades.

En los últimos años, la medicina moderna ha tomado un auge extraordinario, numerosas especies de plantas han sido estudiadas, asimismo el avance en el campo de la química de los productos naturales, la farmacología, biología y toxicología ha permitido el desarrollo de investigaciones que contribuyan a solucionar problemas y a evitar ciertas formas de uso y administración de las plantas medicinales que manifiestan poner en riesgo la salud de la población.

Uno de estos vegetales ha sido *Jatropha curcas* L. que es un pequeño árbol de madera suave y savia traslucida muy utilizado en nuestra región como cercas vivas en las granjas y fincas; comúnmente se le conoce como piñón, piñón de purga o purga, pertenece a la familia de las Euforbiáceas y son muchos los usos medicinales atribuidos a esta planta; que van desde purgativos, cicatrizante, antiséptico, diurético, depurativo, emético, antiinflamatorio hasta antirreumático y anticancerígeno. (18,22)

El género *Jatropha* pertenece a la familia Euforbiáceae, que comprende más de 7000 especies de plantas de casi todo el mundo, muy abundantes en países cálidos. Este género está muy diversificado con cerca de 170 especies, en Colombia después del *Croton* es el género más numeroso de la familia Euforbiáceae.

Dentro de este marco el propósito del presente trabajo de investigación es el de contribuir en la determinación de las actividades de la planta *Jatropha curcas*, si el extracto etanólico de las semillas posee actividad diurética y si el mismo pudiese inducir algún efecto tóxico que afecte la salud y ponga en riesgo a todas aquellas personas que de una u otra forma utilicen esta planta para aliviar sus males.

2. ESTADO DEL ARTE

2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE *Jatropha curcas* L. (22)

Esta planta es conocida popularmente con los nombres vulgares “piñón de purgas, “frailecillo”, y comúnmente en nuestro departamento como “piñón, el cual es un arbusto caducifolio androdioico que crece hasta 6 m de altura, con un diámetro de tronco aproximado (d.a.p) de 14-18 cm, corteza externa lisa, escamosa, muy delgada, de color pardo claro, látex blanquecino de sabor amargo, flores hermafroditas, hojas alternas penta lobuladas, haz de color verde claro con nervios mediales y secundarios, nerviacion palmificada, fruto en drupa oval, inmaduro de color verde, maduros de color amarillo (**figura 1**), sabor amargo y semillas ovoides con dos cotiledones de color blanco crema.

Este arbusto puede presentar hasta dos épocas de floración y fructificación por ciclo anual. Las épocas de floración se registran en los meses de Mayo -Julio, y las de fructificación en los de Julio - Octubre, pero es común encontrar arbustos con flor y fruto en el mes de Julio.(27)

2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA PLANTA

Esta planta de habito perenne, originaria de América del sur se adapta a diferentes condiciones edáficas, ecológicas y climatologicas. Su presencia ha sido informada en todos los continentes, se puede hallar desde el nivel del mar hasta mas de 1000 m de altitud. (71) De acuerdo a los especimenes depositados en los herbarios de la Universidad de Antioquia (HUA), Universidad del Valle (UNIVALLE) y Herbario Nacional Colombiano (COL), esta especie ha sido

coleccionada en Colombia en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Casanare, Cauca, Santander y Valle entre 480 y 1800 m.s.n.m (22, 27)

Figura 1. Semillas de Piñón(*Jatropha curcas L.*) ubicadas en cercados de fincas de la vereda El Delirio- jurisdicción del municipio de Los Palmitos, Sucre.

2.3 USOS ETNOMEDICOS

Tabla 1. Información etnomédica de *Jatropha curcas L.*

Tabla 2. Actividades biológicas reportadas de extractos de *Jatropha curcas*

2.4 QUÍMICA

Muchas especies del género *Jatropha* se han investigado química y farmacológicamente, encontrándose una variedad de interesantes compuestos, especialmente terpenos con diversas actividades farmacológicas, una de estas es *Jatropha curcas L.*, planta en la que se han reportado compuestos que son especificados y detallados en el siguiente cuadro con su respectiva ubicación y referencia bibliográfica:

Tabla 3. Composición Química Reportada en *Jatropha curcas L.*

Las semillas contienen hasta un 40% de un aceite purgante color amarillo, semisecante, que contiene los ésteres de los ácidos palmitico, esteárico (10-17%), linoleico(18-45%), oleico (42-62), Mirístico y araquidonico, ácidos orgánicos (crotonico, tiglinico), sacarosa, rafinosa, estaquiosa, glucosa, fructosa, galactosa, la proteína toxico cursina, curcasina y taninos; el análisis proximal de 100 g de semilla fresca contiene: humedad (6.6 g), proteína (18.2 g), grasa (38 g), carbohidratos totales (33.5 g), fibra (15.5 g) residuos (4.5 g); el contenido total de aminoácidos esenciales es de 36.03 g por 100 g de proteína. (16)

2.5 GENERALIDADES SOBRE EL PROTOCOLO PARA LA EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA ORAL DE PRODUCTOS NATURALES. (90)

La evaluación de la actividad tóxica de los extractos vegetales o compuestos purificados es indispensable para considerar que un tratamiento es seguro; los objetivos de los ensayos de toxicidad implican la utilización de animales sensibles como las ratas de laboratorio; la administración de los extractos en cantidades crecientes permite evaluar los límites de toxicidad; idealmente deben probarse dos vías, tres dosis y ambos sexos para decir que un tratamiento es seguro, debiéndose tomar en cuenta factores como la edad, sexo, especie, condiciones ambientales, acceso a la comida y al agua; las observaciones que se efectúen incluyen: relación dosis-respuesta, síntomas, signos tóxicos, conducta del animal durante el periodo de observación, tiempo de muerte, velocidad de recuperación y autopsia de los animales muertos.

2.5.1 Producto de prueba y animales de experimentación:

La sustancia a probar debe ser administrada oralmente en dosis graduadas a diferentes grupos de animales de experimentación (una única dosis por grupo), las dosis usadas podrán estar basadas en los resultados obtenidos en ensayos previos como el test hipocrático.

Los efectos observados y las muertes ocasionadas por el producto de prueba deben ser resaltados, animales que durante la prueba presenten signos de sufrimiento, dolor deben ser sacrificados humanamente, practicando la correspondiente necropsia para tratar de evidenciar las causas de los efectos observados.

Dentro de las especies de animales de experimentación, propias para la realización de pruebas de toxicidad y diuresis, la más adecuada es la rata, de usarse otra especie debe aclararse y justificarse su selección; los animales seleccionados deben ser adultos jóvenes, sanos con 8 a 12 semanas de edad, entre 180-200 g de peso, con una variación máxima de peso equivalente al 20%

entre individuos; deben usarse 5 animales identificados por dosis de prueba y por sexo, si existe diferencia significativa evidenciada en la susceptibilidad entre géneros, de no conocerse esta diferencia, después de terminado el estudio con animales de uno de los dos sexos, las diferentes dosis probadas, puede trabajarse con un grupo del otro sexo, con una dosis que permita evidenciar la diferencia en la respuesta; además de realizarse la prueba con un grupo de animales control, cuya única diferencia debe ser la no-administración de la sustancia en prueba, cuyo objetivo será el de evaluar aspectos ajenos a esta, que puedan generar efectos adversos en los animales tratados; la selección de los animales que participarán en las prueba, su ubicación en los diferentes grupos de dosis y control, se debe hacer en forma aleatoria, los cuales deben cumplir con un periodo de ambientación al sitio de la experiencia por un mínimo de 5 días antes de la realización de la prueba.

2.5.2 Niveles de dosificación:

Se refiere aquí a la cantidad de niveles de dosificación, como mínimo deben ser cinco, dentro de los cuales estará presente un nivel de efecto no observable, uno de efecto observable y lo posible de efecto letal, que permitirá la elaboración de la curva dosis-efecto y la determinación del valor de la dosis letal media (DL_{50}), mediante el método de Probits. Se debe mantener como dosis límite de prueba 2000 mg/Kg de peso corporal de extracto seco, en lo posible liofilizado.

2.5.3 Periodo de Exposición:

Los animales deben ser apartados con anterioridad a la administración de la sustancia de prueba, manteniéndolos en ayuno pero hidratados 12 horas antes de la dosificación de la sustancia, la cual deberá ser administrada en dosis única a través de cánula orogástrica, de no ser posible, en pequeñas fracciones en no más de 24 horas. El alimento debe ser nuevamente colocado de 2 a 3 horas después de la administración de la sustancia.

2.5.4 Periodo de Observación:

El periodo recomendado de observación es de 14 días, prestando atención especial el día de la dosificación, con una periodicidad y duración de acuerdo con la intensidad de las reacciones observadas. Es importante tener en cuenta al momento de la aparición de signos de toxicidad, su duración, intensidad y momento de muerte.

2.5.5 Examen Clínico Patológico:

Debe ser realizado por lo menos una vez por día, haciendo observaciones adicionales los primeros días del estudio, teniendo en cuenta que todo debe estar perfectamente documentado.

Para evitar la pérdida de información, debe realizarse la respectiva necropsia por muerte prematura de animales o evitar su deterioro por refrigeración adecuada hasta su análisis. Para evitar la pérdida de animales, debe aislarse aquellos que se presenten muy debilitados o moribundos, para garantizar su recuperación.

Las observaciones deberán hacerse en forma detallada, haciendo uso de escalas bien definidas. Deberán incluir pero no limitarse a: cambios en nivel de actividad, movimientos, postura, reactividad ante la manipulación o estímulo sensitivo, comportamiento estereotipado o extravagante, evaluación de piel, pelaje, ojos, membranas oculares, efectos respiratorios, circulatorios, efectos autonómicos y del sistema nervioso central.

De la misma forma debe hacerse control de peso de los animales antes de la administración de la sustancia de prueba y de la muerte, así como periódicamente durante la evolución del estudio, a fin de determinar las alteraciones de peso que pueden ser un importante marcador de toxicidad.

Muy importante resulta la determinación con la mayor precisión posible, del momento en que suceden las muertes de los animales.

Como ayuda importante para la identificación de alteraciones fisiológicas y metabólicas, puede realizarse la toma de muestras sanguíneas y orina, para la realización de su análisis hematológico y químico correspondiente, a fin de determinar la actividad de fosfatasa alcalina (ALP), gammaglutamiltransferasa, sorbitol deshidrogenasa, aspartato deshidrogenasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), ácidos biliares totales, concentración de proteína, albúmina, creatinina, nitrógeno ureico, colesterol, globulina, bilirrubina, urea, calcio, sodio, potasio, y magnesio.

Además realizar el conteo de eritrocitos (RBC), leucocitos (WBC), diferencial de leucocitos, plaquetas, concentración de hemoglobina (Hb), volumen medio corpuscular (MCV), tiempo de protrombina (PT), tiempo parcial de tromboplastinaactivada (ATPT), hematocrito, volumen sanguíneo total, a partir de los cuales pueden ser calculados el volumen celular empaquetado (PCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC).

2.5.6 Examen macroscópico:

Finalizado el estudio los animales deben ser pesados, sacrificados, para el desarrollo de la evaluación de los cambios patológicos macroscópicos y la respectiva necropsia, la cual no se debe demorar más de dos días en realizarse, manteniendo el animal refrigerado a baja temperatura hasta su análisis, evitando de esta forma la autólisis.

2.6 GENERALIDADES SOBRE ACTIVIDAD DIURÉTICA

2.6.1 Función Renal (15)

La principal función de los riñones es la depuración de la sangre mediante la formación de orina. Las unidades funcionales del riñón son las nefronas, unos sistemas compuestos por vasos sanguíneos, capilares glomerulares y túbulos, donde se desarrollan tres procesos básicos para la formación de la orina:

1. La filtración de la sangre que llega a los capilares glomerulares.
2. La reabsorción tubular de sustancias que no deben ser eliminadas.
3. La secreción tubular de sustancias que pueden sufrir también los dos procesos anteriores.

Del equilibrio de estos procesos dependerá la correcta formación de orina que presente una composición, densidad, pH y volumen adecuados

2.6.2 Fisiología renal y mecanismo de acción de los diuréticos (77)

La palabra diuresis significa a través de la micción, por extensión, diurético se refiere a un medicamento que ejerce su mecanismo terapéutico actuando en el contenido y volumen de la orina excretada. Tradicionalmente el diurético se ha utilizado en aquellos procesos que cursaban con edemas y/o disminución del volumen de orina (era un simple problema de ajuste de volúmenes). El avance en los conocimientos de la fisiología renal, de los mecanismos de acción de los diuréticos y de la fisiopatología de diferentes enfermedades determina que las indicaciones terapéuticas de los diuréticos no se basen exclusivamente en problemas de volumen, sino en la modificación del contenido en diferentes sustancias (iones, proteínas, glucosa, etc.) de la orina.

El diurético actúa principalmente disminuyendo la reabsorción renal de Na^+ y Cl^- . Según el segmento de la nefrona sobre el que actúa se determinan su potencia y clasificación.

A grandes rasgos el riñón controla la composición hidro-electrolítica del líquido extracelular interviniendo en el flujo sanguíneo renal, factores humorales y diferentes mecanismos de transporte de membrana.

La redistribución del flujo sanguíneo renal hacia las zonas yuxtamedulares (nefronas con asa de Henle larga y elevada capacidad de reabsorción de Na^+) favorece la retención hidrosalina. Por el contrario, un flujo sanguíneo renal dirigido a la zona cortical (nefronas con asa de Henle corta y menor capacidad de reabsorción de Na^+) determina una mayor diuresis. En general, un aumento global del flujo sanguíneo renal incrementa la diuresis. Los vasos renales tienen

capacidad de autorregulación manteniendo el flujo sanguíneo constante a pesar de variaciones en la presión arterial. El riñón produce y secreta renina, factor clave en el sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Los mecanismos de transporte de sustancias a la célula, intersticio y luz tubular incluyen:

- a) Transporte activo primario: es el transporte acumulativo de solutos (por ejemplo: cationes)
- b) Transporte activo secundario o cotransporte: por medio del transporte activo primario se facilita el transporte secundario de otros solutos o el intercambio de unos solutos por otros (por ejemplo: aminoácidos, glucosa, fosfatos),
- c) Transporte pasivo: en función de un gradiente de presión o electroquímico (por ejemplo: agua, cloruros, urea, etc.). Algunas sustancias utilizan diferentes tipos de transporte según las concentraciones o los diferentes puntos de los túbulos renales.

El túbulo proximal, asa de Henle, túbulo distal y colector actúan como un complejo sistema que mediante la actuación de gradientes osmóticos, de presión o electroquímicos y mecanismos activos de transporte intercambian solutos, agua, aminoácidos, etc., hasta conseguir la emisión de una orina más o menos rica en solutos en función de las necesidades de la homeostasis corporal.

Todos los diuréticos producen una disminución del volumen extracelular y del gasto cardíaco y, en un segundo tiempo, una disminución de las resistencias vasculares periféricas que permanece indefinidamente. El efecto farmacológico se produce en la luz tubular renal, por lo que es necesario una buena función renal que permita suficiente concentración del diurético en la luz tubular. Cuando el aclaramiento de creatinina es menor de 40 mL/min sólo son eficaces los diuréticos de asa.

Existen distintos tipos de clasificaciones de los diuréticos según diferentes criterios: grupo químico, potencia diurética, lugar de acción, duración del efecto,

etc. Ninguna de estas clasificaciones es suficientemente didáctica para el objetivo de este artículo, por lo que hemos decidido denominar a cada grupo con el nombre más frecuentemente utilizado en la bibliografía.

2.6.2.1 Función principal de los diuréticos:

- ✓ Aumentar el flujo urinario
- ✓ Aumentar la tasa de excreción de sodio *Natriuresis*
- ✓ Aumentar excreción sodio con cloruro *Saluresis*

2.6.2.2 Efectos:

- ✓ Excreción de sodio extraído del líquido extracelular
- ✓ Eliminación de agua del líquido extracelular con aumento de diuresis y pérdida de peso.

2.6.2.3 Causas de efectos:

- ✓ Aumento de la filtración glomerular
- ✓ Disminución de la absorción tubular (mayoría de los casos)

2.6.2.4 Mas eficaces:

Los diuréticos que producen la liberación de agua como también la excreción de sodio y cloruro.

2.6.2.5 Menos eficaces:

Los diuréticos que actúan con respecto a la excreción de sodio y cloruro.

2.6.2.6 Diurético ideal:

- ✓ que posea una acción sostenida y no brusca.
- ✓ que tenga acción natriuretica poderosa
- ✓ no debe excretar mucho potasio
- ✓ debe producir excreción equilibrada de sodio y cloruro
- ✓ no debe producir hipotensión arterial excesiva
- ✓ debe tener poca toxicidad y no provocar fenómenos alérgicos
- ✓ debe ser económico

2.6.2.7 *Electrolitos*: Los electrolitos son iones libres que existen en los líquidos corporales. Los principales en líquido extracelular son: Sodio (Na^+), Potasio (K^+), Cloro (Cl^-) y Bicarbonato (HCO_3^-). Todos los procesos metabólicos del organismo afectan de alguna manera a la concentración de electrolitos en sangre y orina. Su concentración (mmol/l) es determinante para la osmolalidad, el estado de hidratación y el pH de los líquidos corporales.

A lo largo de la nefrona los electrolitos son reabsorbidos o secretados según sea necesario para regular su concentración sanguínea y para regular tanto la carga osmótica o el pH de la orina. La existencia de una patología renal se reflejará en el desequilibrio de la concentración de estas sustancias tanto en sangre como en orina de 24 horas.

2.6.3 Diuréticos de asa

Se denominan diuréticos de asa por ejercer su efecto diurético de forma principal en el asa de Henle. Es el grupo de mayor potencia diurética y se utilizan en casos agudos en los que se necesita efecto diurético rápido e intenso, o también en patología crónica cuando no se consigue el efecto terapéutico con diuréticos menos potentes. También se denominan de diuréticos de alto techo.

2.6.3.1 *Mecanismo de acción*. Inhiben el transporte de Cl^- (cotransporte de Na^+ , K^+ , Cl^-) en la parte gruesa del asa ascendente de Henle. Presentan efecto dependiente de la dosis, tienen mayor potencia y rapidez que las tiazidas, por lo que se utilizan en situaciones que requieren una depleción rápida o urgente de sodio y agua.

2.6.4 Furosemida (15)

Pertenece a los diuréticos del asa, es una sulfonamida que actúa sobre el asa de Henle, soluble en acetona, dimetilformamida, en soluciones de hidróxidos alcalinos, en metanol; bastante soluble en alcohol, muy poco soluble en cloroformo y en agua.

- *Vida media:* de media a una hora (1/2 a 1)
- *Comienzo de la acción:* de treinta a sesenta minutos (30 a 60 min.)
- *Efecto diurético máximo:* de veinte a sesenta minutos (20 a 60 min.)
- *Duración de la acción diurética:* de seis a ocho horas (6 a 8 h)
- *Eliminación:* renal (88%), biliar (12%)
- *Dosis :* de veinte a ochenta mg en una sola toma (20 a 80 mg)

2.7 FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE EMISIÓN ATÓMICA (15)

La emisión atómica o emisión de llama, se basa en la medida de la potencia radiante de una línea emitida por un analito aspirado dentro de una llama caliente. Para separar dicha línea por la radiación producida por la llama, así como por los demás constituyentes de la muestra, se emplea un monocromador o filtro. En este caso la llama cumple la misma función que la celda de un espectrofotómetro o fotómetro común; esto es, se puede considerar que la llama esta constituida por una solución gaseosa diluida de la muestra atomizada que se mantiene en su sitio por medio del dispositivo aspirador y quemador.

Pasa la radiación que proviene de la fuente adecuada a través de la muestra atomizada, de la ranura del fotómetro, para discriminar entre la radiación que proviene de la muestra y la emitida por la llama, por lo general se divide el haz antes que alcance la llama. El circuito del detector esta diseñado para rechazar la señal continua de salida que proviene de la fuente y la muestra.

Una de las ventajas es su gran aplicabilidad, su alto grado de especificidad y sensibilidad; por lo cual es necesario tener especial cuidado en la recolección y manipulación de las muestras para evitar contaminaciones o falsos resultados.

3. METODOLOGÍA

3.1 MATERIAL VEGETAL.

3.1.1 Clasificación Taxonómica

Reino	:	Vegetal
División	:	Magnoliophytas o Angiospermae
Clase	:	Magnoliopsida o Dicotiledóneae
Subclase	:	Rosidae
Orden	:	Euforbiales
Familia	:	Euforbiáceae
Subfamilia	:	Jatrophoideae
Genero	:	<i>Jatropha</i>
Especie	:	<i>curcas</i>

Nombre científico: *Jatropha curcas* L

3.2 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

Las semillas de *Jatropha curcas* L. Fueron colectadas en cercados vivos de granjas y fincas de la vereda El Delirio, jurisdicción del municipio de Los Palmitos, departamento de Sucre a 800 m.s.n.m. (**figura 2**)

Figura 2. Fotografía de cercas vivas de piñón (*Jatropha curcas* L.) en pequeñas fincas de la vereda El Delirio, Jurisdicción del municipio de Los Palmitos – Sucre.

La recolección del material vegetal se realizó durante los meses de Julio a Octubre época de fructificación de la planta, el fruto fue colectado seco y maduro;

el material vegetal a utilizar en la extracción se sometió a un proceso de secado a temperatura ambiente en sombra durante una semana; luego de secar el material vegetal se procedió a desvainar y descascarar las semillas, una vez desvainada la semilla se trituro hasta obtenerse un tamaño uniforme de partículas que facilitara el proceso de extracción.

3.3 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Los extractos etéreo y etanólico fueron obtenidos según los siguientes pasos. (ver **esquema 1**)

- a. El material vegetal seco y molido fue sometido a un desengrase con éter de petróleo en un extractor Soxhlet para extraer todo los aceites y compuestos de baja polaridad que se encuentran por lo regular en las semillas y que en este caso se habían reportado en la bibliografía. (**tabla 3**)
- b. El extracto en éter de petróleo que se obtuvo fue concentrado a presión reducida en un evaporador rotatorio, obteniéndose un extracto aceitoso amarillo.
- c. Una vez desengrasado el material vegetal fue secado a temperatura ambiente hasta eliminación de los residuos de éter de petróleo, seguido a esto se sometió a extracción por maceración con etanol al 95% por 8 días. El extracto etanólico de aquí obtenido fue concentrado a presión reducida, el residuo del material vegetal resultante del proceso de maceración fue sometido a extracción por reflujo durante dos horas dos veces, el extracto aquí obtenido también fue concentrado a presión reducida.
- d. Los extractos etanólicos fueron juntados y secados al vacío, obteniéndose un extracto etanólico seco, parte de este se diluyó a una concentración de 100 mg/mL con agua destilada para preparar la solución madre de la cual

se calculó el volumen adecuado para la dosificación respectiva de los animales según su peso, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Dosis (mL)} = \frac{\text{Di(mg/kg)} \times \text{W(g)} \times 10^{-3} \text{ Kg}}{\text{Conc. (mg/mL)}}$$

Di: dosis a inocular

W: peso de la rata

Conc.: concentración de la solución stock

El tamizaje o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta. Se basa en reacciones de precipitación y/o coloración **(13)**

El extracto etanólico de las semillas de *J. curcas* fue sometido a un screening fitoquímico por el método descrito en las notas del análisis fitoquímico del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia¹.

Se realizó un análisis preliminar cualitativo que incluyó las pruebas de Antrona, Molish, Shinoda, Quinonas, Liebermann y Salkowski.

Figura 3. Esquema de la obtención de los extractos etéreo y etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L.(piñón)

3.4 PROTOCOLO REALIZADO PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Jatropha curcas* L.

Esta parte del estudio se realizó en las instalaciones del BIOTERIO de la Facultad de Farmacia en la Universidad Nacional.

¹ SANABRIA, Galindo, A. Análisis Fitoquímico Preliminar. Bogota. 1983.

3.4.1 Animales de Experimentación:

Los animales de experimentación utilizados fueron 25 ratas albinas jóvenes adultas, cepa Wistar, machos, de una edad de 9 semanas y adquiridos del BIOTERIO de la Universidad Cooperativa de Colombia.

Los animales fueron dispuestos en número de 5 por caja según su peso, sin diferir en más del 20%, marcados aleatoriamente con ácido pícrico en la oreja derecha, mano derecha, pata derecha, cola y pata izquierda.

Luego de marcados los animales fueron sometidos a un periodo de ambientación durante 5 días, bajo condiciones controladas de humedad relativa (30-70%), temperatura (21-22 °C), fotoperíodos (luz-oscuridad 12-12 horas), sanitización de su micro y macro ambiente, sometidos a un ayuno pero hidratados con un periodo de 12 horas antes de la dosificación del extracto.

3.4.2 Administración :

Se administró en dosis única mediante cánula orogástrica niveles de dosificación de 2000, 800, 500 y 200 mg /Kg de peso corporal a los animales según su marcación en orden respectivo de oreja derecha, mano derecha, pata derecha, cola y pata izquierda como control por caja al cual se le administro el vehículo, las cajas fueron numeradas del 1 al 5 mantenidas bajo condiciones estándar ya mencionadas.

3.4.3 Periodo de observación:

Se observó a intervalos de 2 horas durante 8 horas el primer día y por periodo de 12 horas los días siguientes, todo a intervalo de 14 días, registrando datos de estímulo sensitivo, reactividad ante la manipulación, efectos respiratorios, evaluación de piel, pelaje, ojos, membranas oculares, efectos autonómicos y del sistema nervioso central.

Se hizo un control de peso de los animales antes de la administración del extracto, así como periódicamente durante la evolución del estudio en los días 0, 3, 7, 11 y 14 del ensayo.

Posteriormente se realizaron las autopsias de los animales para observar los cambios patológicos y macromorfológicos, por no observarse una toxicidad letal a lo largo del ensayo, se realizó un análisis histopatológico de los riñones e hígado de cada uno de los animales de las dos mayores dosis, para asegurarnos que no se daban cambios ni a nivel micro o macro patológico.

3.4.4 Análisis Histopatológico.

Esta parte del estudio se realizó en el laboratorio de Histotecnología e Histopatología de la Pontificia Universidad Javeriana

3.4.4.1 Conservación y tratamiento de órganos: Las muestras se colocan en formol buferado con Carbonato de sodio al 10 %.

3.4.4.2 Procesamiento General del Tejido:

Se tomó el órgano buferado, se colocó en el procesador automático técnico de la siguiente forma:

- ✓ Se colocó el tejido en alcohol absoluto por una hora tres veces, luego en tres frascos con xilol por una hora cada uno, se repitieron estos dos pasos con el fin de hidratar y deshidratar el tejido e incluirlo en parafina.
- ✓ *Inclusión en bloque de parafina.* El tejido se incluyó en un molde para confeccionar el bloque de parafina.
- ✓ *Corte del Tejido.* Una vez incluido en parafina, se llevó el bloque al micrótopo realizándose cortes de 4 μ , este tejido cortado se calentó en baño María a 30 °C por 30 seg. Para que se produjera estiramiento; luego se colocó el tejido en un portaobjeto, se llevó a la estufa a 40 °C para eliminar la parafina.

✓ *Tinción.* Para este paso se colocó el tejido en la batería de coloraciones con hematoxilina y eosina. El tejido se colocó en xilol tres veces, en alcohol tres veces por 15 minutos cada uno para eliminar la parafina; luego se colocó en hematoxilina por un minuto, se lavó con agua corriente. Se colocó en agua amoniacal (“entrada por salida”), se lavó con agua corriente. Se introdujo en eosina por 30 segundos, se lavó nuevamente con agua. Se pasó por tres veces en alcohol absoluto durante 15 minutos cada uno, después tres veces en xilol 15 minutos cada uno. El tejido se fijó con resina, se colocó en el cubreobjeto. Luego se realizó el montaje en el microscopio.

3.5 PROTOCOLO REALIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Jatropha curcas* L.

Esta parte del estudio se realizó en las instalaciones del BIOTERIO de la Pontificia Universidad Javeriana.

3.5.1 Animales de Experimentación:

Los animales de experimentación fueron 24 ratas albinas jóvenes adultas, cepa Wistar, hembras, de una edad de 9 semanas y adquiridos del BIOTERIO de la Universidad Cooperativa de Colombia.

Los animales fueron dispuestos en número de 4 por grupo según su peso, sin diferir en más del 20%, marcados aleatoriamente con ácido pícrico en la oreja derecha, mano derecha, pata derecha y cola.

Luego de marcados los animales fueron sometidos a un período de adaptación durante 6 días, bajo condiciones controladas de humedad relativa (30-70%), temperatura (18-22 °C), fotoperíodos (luz-oscuridad 12-12 horas), sanitización de su micro y macro ambiente, sometidos a un

ayuno pero hidratados con un periodo de 12 horas antes y durante el ensayo.

3.5.2 Administración:

Se administró en dosis única mediante cánula orogástrica niveles de dosificación de 20 y 200 mg /Kg de peso corporal , así mismo se administraron los controles, furosemida en dosis de 20 mg/Kg como control positivo y agua destilada como control normal.

3.5.3 Colección de Muestras:

Una vez administrados los animales según sus marcaciones que respectivamente fueron de oreja derecha, mano derecha, pata derecha y cola; se colocaron en jaulas metabólicas de forma aleatoria, se colectaron las muestras de orina a intervalos de 2 horas durante 6 horas. Se midió el volumen y el pH correspondiente de cada una de las muestras de orina.

3.5.4 Determinación de los niveles de electrolitos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) en las muestras de orina colectadas:

Esta parte se realizó en el laboratorio de Absorción Atómica del departamento de Química de la Pontificia Universidad Javeriana utilizando un espectrofotómetro de adsorción y emisión atómica en llama marca Shimadzu AA-640-13. **(figura 3)**

Se realizaron las mediciones de los valores de Potencia Emitida para la determinación de los niveles de Na^+ , K^+ y los valores de absorbancia para Ca^{2+} bajo las siguientes condiciones de medición:

Tabla 4. Condiciones de medición utilizadas en el espectrofotómetro de adsorción y emisión atómica.

Nota: Para la medición de los datos de absorbancia en el caso del Calcio se utilizó una corriente de lámpara de 5 mAmp. flujos de acetileno y aire de 2 y 9 L/min respectivamente.

Para la determinación de los niveles de Sodio, Potasio y Calcio en la orina se prepararon soluciones patrones de 2 y 4 ppm para el Sodio, 0.2 y 0.4, 1 y 3 ppm para Calcio con diluciones de las muestras de 1/500, 1/1000 y 1/10 respectivamente.

Figura 3. Espectrofotómetro de absorción en llama marca Shimadzu.

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico, ensayo de toxicidad aguda oral, análisis histológicos de los animales tratados y ensayo de diuresis se presentan a continuación.

4.1 FITOQUIMICA PRELIMINAR

Tabla 5. Datos del rendimiento de los extractos de las semillas de *J. curcas*

Tabla 6 . Análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas L.*

Durante el proceso de extracción y secado se dio espontáneamente la formación de unos cristales irregulares, codificados como JR-1 (3 mg) y un precipitado en forma de agujas codificado como JR-2 (2 mg), a los cuales se le realizaron pruebas físicas de solubilidad y puntos de fusión; pruebas químicas como se presentan en las tablas 7a y 7b.

Tabla 7a. Pruebas físicas y químicas para JR-1

Tabla 7b. Pruebas físicas y químicas para JR-2, comparado con la literatura

4.2 TOXICIDAD AGUDA ORAL

4.2.1 Peso de los Animales Tratados

Tabla 8 . Peso, marcación y dosificación de los animales de la caja I tratados con el extracto etanólico de las semillas de *J. curcas*.

Tabla 9. Peso, marcación y dosificación de los animales de la caja II tratados con el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas L.*

Tabla 10. Pesos, marcación y dosificación de los animales de la caja III tratados con el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L.

Tabla 11. Peso, marcación y dosificación de los animales de la caja IV tratados con el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L.

Tabla 12. Peso, marcación y dosificación de los animales de la caja V tratados con el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L.

Tabla 13. Datos de ganancia de peso en gramos de las ratas durante el periodo de tratamiento (14 días)

Los datos de ganancia en peso de los animales tratados no son significativamente diferentes con relación a la ganancia de peso de los animales “blanco”.

4.3 MACRO E HISTOPATOLOGÍA DE LAS RATAS TRATADAS

Las ratas durante las primeras seis horas mostraron tener buena motricidad y sed, distintivamente de los animales testigo o blanco, después de este periodo de tiempo los animales demostraron tener un comportamiento normal uniforme, tanto los animales tratados con el extracto vegetal como los testigos o blancos.

Además los animales demostraron tener condiciones de respuesta normal, así como condiciones de estabilidad física. Todos aquellos que fueron sacrificados mostraron tener órganos y estructura general típica, sin variaciones de los animales “blanco”.

El resultado del análisis histopatológico es el siguiente:

4.3.1 Hígado (Coloración Hematoxilina y eosina):

Los cortes de todos los órganos analizados mostraron especímenes con estructura y organización dentro de parámetros normales de funcionalidad y organografía.

Se observó parénquima, intersticio, vascularidad y ductos dentro de patrones morfológicos normales.

Se observó acinos hepáticos con venula portal, arteriolas hepáticas y ductos hepáticos sin alteración.

No se observó inflamación de ninguna estirpe (polimorfonucleares, linfocitos o eosinofilos)

4.3.2 Riñón:

Todos los cortes de los órganos de los animales seleccionados muestran especímenes con arquitectura íntegra, sin alteraciones microscópicas, lóbulos renales en posición central y medular, encontrándose las nefronas íntegras sin infiltración de células inflamatorias y los glomérulos se observaron exhibiendo una celularidad dentro de los límites de normalidad.

Figura 4. Microfotografía de la sección transversal de hígado de una rata tratada con dosis de 2000 mg/Kg de extracto etanólico de *J. curcas*.

Figura 5. Microfotografía de la sección transversal de hígado de rata tratado con dosis de 800 mg/Kg.

Figura 6. Microfotografía de corte transversal de riñón de rata tratada con una dosis de 800 mg/Kg, en la que se observa morfología normal..

Figura 7. Microfotografía de un corte transversal de riñón de una rata tratada con dosis de 2000 mg/Kg de extracto etanólico de *J. curcas* en la que no se evidencia ningún daño morfofisiológico.

Figura 8. Microfotografía de un corte transversal de riñón de una rata tratada con dosis de 500 mg/Kg de extracto etanólico de *J. curcas* en la que no se evidencia ningún daño morfofisiológico.

4.4 DIURESIS

A continuación se muestran los datos obtenidos y las graficas de los ensayos de la actividad diurética.

Las tablas 14, 15,16, 17 y 18, donde aparecen los pesos, agrupación de animales, volúmenes colectados de orina, pH y electrolitos (Sodio, Potasio y Calcio).

En la grafica 1 promedios de volumen de orina eliminado, se observa un alto volumen de eliminación de orina de los tratamientos comparados con el blanco y con respecto al patrón (furosemida) menor para el tratamiento D2; durante la primera medición. Durante la segunda medición se observa que el promedio de los volúmenes de orina colectado para el grupo administrado con D2 disminuye con relación a la primera medición, al realizar la tercera medición la respuesta disminuye en ambas dosis con relación a la primera medición, con respecto al patrón y el blanco.

En la grafica 2 y 3 se registran los promedios de Sodio y Potasio, en ellas se observa que los contenidos de estos electrolitos son mayores con respecto al blanco y el patrón en las mediciones 2 y 3, mientras en la medición 1 no se observan discrepancias notables entre el patrón, el blanco y las dosis administradas, durante la segunda medición el volumen de orina del tratamiento D1 disminuye comparado con la primera medición y el patrón furosemida, D2 disminuye comparado con la primera medición y con el patrón. En la tercera medición el volumen eliminado de orina del tratamiento D1 Y D2 disminuye respecto a las mediciones del patrón y blanco.

En la grafica 4 se registran los promedios correspondientes a las muestras analizadas para la determinación de Calcio, en ella se observa un aumento general de las dosis con respecto al blanco y el patrón durante las dos primeras mediciones, luego se registra un aumento del blanco en la tercera medición.

Tabla 14. Peso de las ratas tratadas con el extracto etanólico de *J. curcas* en la evaluación de la diuresis.

Tabla 15. Datos generales de volúmenes colectados de orina

Tabla 16. Valores generales de pH para cada una de las muestras de orina.

Tabla 17. Medidas de absorbancia (Na^+ y K^+) y potencia (Ca^{2+}) emitidas por el espectrofotómetro de adsorción atómica.

Tabla 18. Datos de concentración en p.p.m obtenidos a partir de la extrapolación de la grafica de los datos de la tabla anterior contra concentración de los patrones por el factor de dilución respectivo.

Grafico 1. Promedio de volumen de orina de los grupos según el tratamiento.

Grafico 2. Promedios de concentración de Sodio en ppm de los grupos tratados.

Grafico 3. Promedio de la concentración de Potasio en ppm de los grupos tratados

Grafico 4. Promedio de la concentración de Calcio en ppm de los grupos tratados.

Tabla 19. Análisis estadístico general de varianza de los volúmenes de orina

4. DISCUSIÓN

5.1 Fitoquímica preliminar

El estudio fitoquímico preliminar mostró que el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* contienen alcaloides en gran abundancia y en menor proporción lactonas, triterpenos y/o esteroides como también antocianinas, lo cual está de acuerdo con los reportes bibliográficos

El cristal descrito como JR-1 (punto de fusión: 180-181°C) obtenido del extracto etanólico, según las pruebas cualitativas anteriormente descritas muestran que posiblemente se trate de un glucósido, puesto que las pruebas de Antrona y Molish son específicas para reconocer este tipo de compuestos, soportado también en el hecho de que fue soluble en agua y en ácido diluido.

Las agujas descritas como JR-2 obtenidas del extracto etanólico, las cuales poseen un punto de fusión de 186 °C, parece ser el compuesto descrito por Cáceres² como α - amirina, compuesto que precipita en forma de agujas al evaporar el etanol, con características también notadas para JR-2 y con el mismo punto de fusión.

5.2 Toxicidad aguda oral

Teniendo en cuenta lo dicho por Torres³ se puede decir que el extracto etanólico no induce toxicidad aguda oral en ratas albinas Wistar machos,

² Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos. Guatemala. 1996

³ Protocolo para la evaluación de toxicidad en productos naturales de la Universidad Nacional. 2002

puesto que a lo largo del estudio los animales tratados con las dosis altas no murieron como era de esperarse, en el cual los animales suelen morir si el extracto es tóxico con dosis inferiores a 2000 mg/Kg, la cual es la dosis máxima utilizada en estudios de esta índole. En este estudio esto esta soportado además por los hechos de no haber encontrado significativo el incremento de los pesos de los animales tratados con relación al de los animales “blanco”, como también de no haberse observado cambios macro morfológicos generales, como histopatológicos a nivel de riñón e hígado, de los animales tratados.

5.3 Actividad Diurética

La interpretación de los datos se realizó con base a un análisis de varianza en el cual se compararon las dosis D1 y D2 (200 y 20 mg/Kg) con el blanco B y el patrón P (furosemida); en vista de diferencias significativas entre cada una de las dosis y el número de mediciones (horas) de los volúmenes de orina, y teniendo en cuenta los conceptos dados por Goodman Gilman⁴ se puede decir que el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L. aumenta los volúmenes de orina al ser evaluado en ratas albinas Wistar hembras.

En la gráfica 1 se pueden observar los incrementos de volumen de orina con relación al blanco, los cuales fueron mayor durante las dos primeras horas (primera medición) para las dos dosis administradas, pero menores al patrón utilizado; esto indica que a las dosis administradas del extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L tienen su mayor efecto durante las 2 primeras horas del tratamiento, puesto que en la segunda y tercera medición (dos y cuatro horas después de la primera medición) el incremento inducido por la dosis a menor concentración se ve notablemente disminuido. Cabe notar que la dosis descrita como D1 durante la primera medición registró un

⁴ Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Buenos Aires. Séptima Edición. 1985: 837-900

promedio muy parecido al máximo del patrón durante todo el tratamiento, que fue el registrado durante la segunda hora.

Para determinar el tipo de diuresis producida por el extracto se tiene en cuenta el concepto dado por Stein⁵, donde describe la clasificación de la diuresis. Dentro de ésta encontramos la diuresis de solutos, de tipo electrolítico o no electrolítico, esta diuresis de tipo electrolítico es un aumento de iones de sodio y potasio en la nefrona y una mayor pérdida de agua y electrolitos en orina. Teniendo en cuenta esta información y los datos registrados en las gráficas del análisis de eliminación de sodio y potasio en orina, se puede decir que el extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L. presentó un aumento en la eliminación de sodio y potasio en las mediciones 2 y 3, y por lo tanto se puede considerar que este extracto posee actividad diurética de tipo electrolítica a intervalo corto de tiempo.

Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas en el análisis de electrolitos, hay que tener en cuenta que las muestras analizadas son "pocas", que se debe tener cuidado en la manipulación, colecta y análisis de los electrolitos, puesto que ellos se encuentran en concentraciones relativas muy bajas, y mucho mas si se tiene en cuenta que aquí se tomaron a intervalos de tiempo de medición de dos horas, tiempo en que las concentraciones acumuladas son relativamente mas bajas que si se hubiese tomado a intervalos de 24 horas, tiempo en el cual se acumula mas cantidad de estos electrolitos.

Posiblemente teniendo en cuenta todo esto, se puede decir que la disminución en la concentración del extracto etanolico de las semillas de ésta planta afecta la excreción de volumen de orina en las ratas tratadas. Hay que considerar también que un extracto vegetal esta formado por muchos compuestos químicos que varían mucho en concentración y tipo, y que solo

⁵ STEYN, Jay: Medicina interna. Segunda edición. Tomo I. Salvat editores: 736-52

algunos de ellos o la suma total son los responsables del aumento en los volúmenes de orina aquí registrados.

6. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico posee compuestos de naturaleza alcaloidea, triterpénica, esterólica y antocianinica.
- Las pruebas preliminares indican que el cristal descrito como JR-1 es un glucósido y el codificado como JR-2 es α -amirina.
- El extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L. no induce alteraciones tóxicas generales, macromorfológicas o histopatológicas.
- El extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* L. no presenta actividad tóxica aguda oral en ratas albinas cepa Wistar de sexo masculino.
- El extracto etanolico de las semillas de *Jatropha curcas* L. presenta actividad diurética a dosis de 200 mg/Kg en un periodo de tiempo de cuatro horas (dos primeras mediciones) y a 20 mg/Kg durante dos horas (primera medición).
- Al analizar los resultados obtenidos del análisis electrolítico de sodio, potasio y calcio en las muestras de orina excretadas por las ratas tratadas, se puede decir que el extracto produce una diuresis de tipo electrolítica en un intervalo corto de tiempo

7. RECOMENDACIONES

El estudio de la bioactividad de un extracto vegetal es muy cuidadoso y amplio, lo que ocasiona un gran cúmulo de investigaciones.

En el presente estudio se vienen dando los primeros pasos en estudio de este tipo para que sirvan de estímulo a investigaciones venideras con relación a esta misma planta.

Para esto se proponen las siguientes recomendaciones:

- Tener cuidado en la recolección y manipulación de las muestra, para que de esta forma no se contaminen y no obtener resultados errados.
- Realizar un estudio fitoquímico mas detallado y amplio que determinen los principales metabolitos secundarios de las semillas de *J. curcas*.
- Realizar colectas de muestras de orina por un tiempo mas amplio que involucre varios días.
- Realizar determinaciones de urea, ácido úrico, proteínas, grasas, glucosa, creatinina y otros electrolitos tales como Magnesio, Cloro, Fosfatos, Sulfatos entre otros.
- Determinar la toxicidad aguda de las fracciones del extracto etanólico en ratas de ambos sexos o utilizando otro tipo de animal experimental.

- Evaluar otros tipos de actividades biológicas.

- Realizar el estudio toxicológico y diurético del extracto etanólico de las semillas de *J. curcas* utilizando métodos de dosificación (Intravenoso, intramuscular e intraperitoneal), que permitan estimar niveles de toxicidad en otras partes del animal.

- En el estudio toxicológico del extracto etanólico de *J. curcas* realizar mediciones de AST, GTP, ALT y otras que permitan comparar el nivel toxico a otras escalas.

- Realizar determinaciones estructurales de los cristales JR-1 y JR-2 obtenidos y evaluar actividades biológicas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ABDU, A; Sannusi, A; et al. Acute Toxicity Studies with *Jatropha curcas* L. In: Human Toxicology. 1986.5(4): 269 – 7. ISSN: 0144 – 5952.
2. ADESINA, S. : studies on some plants used as anticonvulsants in Amerindian and African traditional medicine. Fitoterapia. 53: 147-62.1982
3. ADEWUNMI, C.; Marquis, V.: Molluscicidal evaluation of some *Jatropha* species grown of Nigeria. Q. J. Crude. Drug. Res. 18: 141-5.1980
4. ADOLF, W.; Opferkuch, H.; et al. : Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species. Phitochemistry. 23(1): 129-32.1984
5. ADOLPH, W.; Opferkuch, H.; et al. Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species. Institute of Biochemie Deuts Deutsches Krebsforschungszentr Heidelberg. Phytochemistry. 23(1): 129-32. 1984.
6. AFRICAN JOURNAL ONLINE. The latex of *Jatropha curcas* Linn (Euforbiáceae) : A prospective haemostatic agent. In: Nigeria quarterly. Journal of Hospital Medicine. 9(2). 1999.
7. AREGHEORE, E.M.; Makkar, H.P.S.; Becker, K. Assessment of lectin activity in a toxic and a non-toxic variety of *Jatropha curcas* using latex agglutination and haemagglutination methods and inactivation of lectin by heat treatments. In: Journal of the Science of Food and agriculture, Band 77, Heft 3. 1998 S.349-352.
8. ASTHANA, A.; Mall, H.; et al.: Fungitoxic properties of latex of plants with special reference to that of *Croton bonplandianus* Baill. International journal crude drug research. 27(1): 25-58. 1989

9. AUVIN, C.; Baraguey, C.; et al. Curcacycline B, a cyclic nonapeptide from *Jatropha curcas* enhancing romatase activity of cyclophilin. Paris. Francia. Tetrahedron Lett. 38(16): 2845-8.1997.
10. BADWI, S.M.; Adam, S.E.; et al. Comparative toxicity of *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* in Brown hisex chicks. In: Dtsch Tierrarzt1 Wochenschr. 102(2): 75-7.1995. ISSN: 7600941.
11. BEUTLER, J.; Alvarado, A.; et al.: Distribution of phorbol ester bioactivity in the Euphorbiaceae. Phitother Res. 3(5): 188-192. 1989
12. BIEHL, J.; Hecker, G. Irritant and antineoplastic principles of some species of the genus *Jatropha* (Euforbiácea). Annual conges on medical plan research Hamburg. Germany. 1986
13. BILBAO, Maria: Análisis fitoquímico preliminar. Universidad del Quindío. Armenia.1997
14. BLOHM, H. *Jatropha curcas* In: Poisonous Plant of Venezuela. Firgt. Ed. Harvard. University Press. Cambridge, Massachusetts, U.S.A. 1962. 53-4.
15. BUITRAGO, A.; Wagner, C.: Actividad diurética de la *Curatella americana*. Tesis de grado. Bacteriología. Pontificia Universidad Javeriana. Bogota.1998
16. CÁCERES, A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial universitaria. Colección Monografías. Vol. N° 1. Universidad de San Carlos. Guatemala.1996.
17. CACERES, A.; Lopez, B.; et al.: Plants used in Guatemala for the treatment protozoal infections. Universidad de Guatemala. J. Etnopharmacol. 62(3) 195-202.1998
18. CANO A.L.M. & HERNÁNDEZ A.C. El piñoncillo (*Jatropha curcas*) Recurso Biótico Silvestre del Trópico. Cuaderno de divulgación. INIREB. Zalapa – Veracruz. México. 1984.14:1-16.

19. CHEN, M.; Hou, L.; et al. The diterpenoids from *Jatropha curcas* L. Institute of Botany Academia Sinica. Beijing. China. Chih wu hsueh pao. 30(3): 308-11.1988
20. CLARKE, J.H. Dictionary of practical, Materia Medica: *Jatropha*. Medi – T.
21. COE, F.; Anderson, G.: Screening of medicinal plants used by the Garifuna of eastern Nicaragua for bioactive compounds. Journal. Etnopharmacol. 53(29-50). 1996
22. CORREA, L.E & BERNAL, H.Y. Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello. Tomo VII. SECAB. Bogota. Colombia.1992.542-76.
23. DHAWAN, B.; Patnaik, G.; et al.: Screening of Indian plants for biological activity. Indian J. Exp Bio. 15: 208-219.1977
24. FAGBENRO, A.F.; Oyibu, W.A; Et al. Disinfectant antiparasitic activities of *Jatropha curcas*. In: East African Medicine Journal. 75(9): 508 -11. 1998. ISSN: 10493051.
25. FRIESE, F.: certain little know anthelmintics from Brasil. Apoth ztg 44: 180.1929
26. GANDHI, V.M; Cheriam, K.M; Mulky, M.J. Toxicological studies on ratanjiot oil. In: Food Chemical Toxicology; 33(1): 39-42.1995
27. GARCÍA BARRIGA, H. Flora medicinal de Colombia. Botánica Medica. Tomo II. 2ª Edición. Tercer mundo Editores. Bogota. Colombia.1992. ISSN: 958601-368-5.
28. GARCÍA BARRIGA, H. *Jatropha curcas* L. In: Flora Medicinal de Colombia. Tomo II. 1ª Edición. Imprenta Nacional. Bogota. Colombia.1975. 102 – 4.
29. GOONASEKERA, M.M.; Gunawardana, V.K.; et al. Pregnancy terminating effect of *Jatropha curcas* in rats. In: Journal Etnopharmacol. 1995. 47(3): 117-23.

30. GROSVENOR, P.; Gothard, P.; et al.: Medicinal plant from Riau province, Sumatra, Indonesia. *Journal ethnopharmacol.* 45(2): 75-95.1995
31. GUPTA, M.; Monge, A.; et al.: Screening of Panamanian medicinal plant for brine shrimp toxicity, crow gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation. *Int. Journal ethnopharmacog.* 34(1): 19-27.1996
32. HATTORI, M.; Nakabayashi, T.; et al.: Inhibitory effects of various ayurvedic of panamanian medicinal plant on the infection of herpes simplex virus-1 in vitro and vivo. *Phytother. Res.* 9(4): 270-6.1995
33. HEIM, F.: The toxic principles of the seed and oil of the physic nut tree (*Jatropha curcas* L.). *Bull del'office colonial.* 12(96)
34. HIROTA, M.; Suttajit, M.; et al. A new tumor promoter from seed oil of *Jatropha curcas* L., an intramolecular diester of 12-deoxy-16-hydroxyphorbol. Tokyo. Japan. *Cancer Research.* 48(20): 5800-4.1988
35. HORIUCHI, T; Fugiki, H; et al. Presence of tumor promoters in the seed oil of *Jatropha curcas* Linn. Of Thailand. In: *Japanese Journal of Cancer Reserch.* 1987. 78(3): 223-6 ISSN: 0910-5050.
36. HORSTEN, S.F; Van den Berg A.J; et al. Cielogossine A a novel cyclic heptapeptide isolated from the latex of *Jatropha gossypifolia*. In: *Planta Medica.* 1996. 62(1): 46-50. ISSN: 0032-0943.
37. HUFFORD, C.D.; Oguntimein, B.O.; et al. Non-polar constituents of *Jatropha curcas*. Department of Botanical and physiology. University of Bhagalpur. *Int.J.Crude Drug Research.* 23(2): 77-86.1985
38. HUSSAIN, H.; Denni, Y.: Plant and Kano ethnomedicine, screening for antimicrobial activity and alkaloids. *International Journal Pharmacog.* 29(1): 51-6. 1991
39. JAMES, A.D. *Jatropha curcas* L. In: *Hand book of energy crops.* 1983.
40. JENWANICHPANJAKUL, P.; Satthapitanondha, K.; et al. Studies of Chemical and physical properties of physic nut oil. *Science Thailand.* 35(8): 820-3.1981

41. JIMÉNEZ, L.; León, M.C; et al. Efecto diurético del *Xanthium strumarium* L. Instituto Superior de Ciencias Medicas Carlos J. Finlay. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 1999. 1(4): 22-5.
42. JOSHI, P.: Herbal drugs used in Guinea worm disease by the tribals of southern Rajasthan. India. International Journal Pharmacog. 29(1): 33-8. 1991
43. KAMBU, K.; Tona, L.; et al.: Antispasmodic activity of extract proceeding of plant antidiarrheic traditional preparations used in Kinshasa. Zaire. Annh Pharm fr. 48(4): 200-8. 1990
44. KHAFAGY, S.; Mohamed, Y.; et al. Phytochemical study of *Jatropha curcas*. University of Alexandria. Alexandria. Egipto. Planta Med. 31. 274-7. 1977
45. KHAN, M.; Jain, D: Occurrence of some antiviral sterol in artemisa annua. Instituto Lucknow. India. 1991
46. KLINAR, S.; Castillo, P.; et al.: Biological activity of medicinal plant of ica. Peru. Fitoterapia. 66(4) 341-5. 1995
47. KONE, D.; Pelissier, Y.; et al.: Hemostatic activity of 216 plant used in traditional medicine in the Ivory Coast. Plant Med Phytother. 21(2): 122-30. 1987
48. KONG, L.; Min, Z.; et al. Chemical constituents from roots of *Jatropha curcas*. Nanjing. China. Chih wu hsueh pao. 38(2): 161-6. 1996
49. KONG, L.; Mind, Z.; et al.: Chemical constituents from roots of *Jatropha curcas*. Chih Wu Hsueh Pao. 38(2): 161-6. 1996
50. KOSASI, S; Hart L.A; et al. Inhibitory activity of *Jatropha multiida* latex on classical pathway activity in human serum mediated by a calcium – binding proantocyanidin. In: J. Ethnopharmacol (1989). 27(1-2): 81-9.
51. LABADIE, R.P; Van der nat. , J.M; et al. Ethnopharmacognostic approach to the search for inmunomodulators of plants origin. In: Planta Medica. 1989. 55(4): 339- 48. ISSN: 0032-0943.

52. LE GRAND, A.: Anti-infectious phytoterapy of the tree- Savannah, Senegal: Review of the fitochemical substances and antimicrobial activity of 43 species. *Jetnopharmaacol.* 25(3): 315-338.1989
53. LE GRAND, A.; Wondergem, P.: Antiinfective phytoterapy of the Savannah forests of Senegal. *J. Ethnopharmacol.* 21(2): 109-125.1987
54. LE GRAND, A.; Wondergen; et al.: anti-infectious phytoterapies of the tree-Savanah of Senegal. *J. Ethnopharmacol.* 22(1): 25-31.1988
55. LIU, S.Y.; Sporer, F.; et al. Antraquinones in *Rheum palmatum* and *Rumex dentatus* (Poligonaceae); and phorbol ester s in *Jatropha curcas* (Euforbiáceae) with molluscicidal activity against the schistosome vector snail *Oncomelania*, *Biomphalaria* and *Bulinus*. In *Tropical Medicine International Health.* 2(2): 179-88.1997. ISSN: 9472303.
56. MACRAE, W.; Hudson, J.; et al.: Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *J. Ethnopharmacol.* 22(2): 143-172.1988
57. MADULID, D; Gaerlan, F.; et al.: Ethnopharmacological study of the ati tribe in Nagpana barotac. *Acta Manilana.* 38(1): 25-40. 1989
58. MAKKAR, H.P.; Becker, K.; et al. Edible provenance of *Jatropha curcas* L. from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factor s in seed. In: *Plant Foods Human Nutritional.* 1998; 52(1): 31-6: ISSN: 9839932.
59. MAKKAR, H.P.S.; Aderibigbe, A.O.; Becker, K. Comparative evaluation of non- toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical compositions.
60. MAMEESH, MS. EL-Hakim, L, Hassan, A. Reproductive failure in female rats fed the fruit or seed of *Jatropha curcus*. *Planta med.*11: 98-(1963).

61. MATSUSE, I.; Lim, Y.; et al. A search for antiviral properties in Panamanian medicinal plants. The effects on HIV and its essential enzymes. Toyama. Japón. Journal Ethnopharmacol. 64(1): 15-22.1999
62. MCLATCHEY, W: The ethnopharmacopoeia of rotuma. J. Ethnopharmacol. 50(3): 147-56.1996
63. MESHARAM, P.; Kulkarai, N.; et al.: Antifeedant activity of *Azadirachta indica* and *Jatropha curcas*. J. Environ. Biol. 17(4): 295-8.1996
64. MOREIRA DÍAZ, E. Fundamentos metodológicos de los bioensayos de toxicidad y carcinogenicidad. 2002
65. MOURGUE, M.; Delphaut, J.; et al.: Study of toxicity and localization of the toxalbumin(curcin) of the seed of *Jatropha curcas*. Bull Soc Chim Biol. 43:517.1961
66. MUANZA, D.; Kim, B.; et al.: Antibacterial and antifungal activities of nine medicinal plant from Zaire. Int. J. Pharmacog: 32(4): 337-345.1994
67. MUJUMDAR, A.; Upadhye, A.; et al.: Studies on antidiarrhoeal activity of *Jatropha curcas* roos extract in albino mice. J. Ethnopharmacol. 70(2): 183-7. 2000
68. NAENGCHOMNONG, W.; Thebtaranonth, Y.; et al. Isolation and structure determination of two novel lathyranes de *Jatropha curcas*. Bangkok. Thailand. Tetrahedron Lett. 27(47): 5675-8.1986
69. NATH, L.; Dutta, S.: Extraction and purification of curcai, a protease from the latex of *Jatropha curcas* Linn. J. Phar. Pharmacol. 43(2): 11-114. 1991
70. NOVY, J.: Medicinal plant of the eastern region of Madagascar. USA. J.Ethnopharmacol. 55: 119-126.1997
71. PADILLA, D & Montenegro. Diagnostico preliminar de enfermedades del cultivo de Tempaté (*Jatropha curcas L*) en Nicaragua. Catle. Nicaragua.. 2000

72. PANIGRAHI, S.; Francis, B.; et al.: Toxicity of *Jatropha curcas* seeds México to rats and mice. Nutr. Rep.Int. 29(5): 1089-99.1984
73. PERROT, E; Hurrier, P: Matière medicale et pharmacopée sino-annamites. Paris. 1907
74. PETELOTO, A. Les plantes médicinales du Cambodge, du Laos et du Vietnam, vol 1-4 .1954.
75. PICHA, P.; Naengchommong, W.; et al. Effect of natural pure compounds curcusones A and C from *Jatropha curcas* on thermosensitivity and development of thermotolerance in Chinese hamster V-79 cells in vitro. Journal Clinical Cancer Research. 15(2): 177-83.1996
76. PLETSCHE, M.; Charlwood, B. Accumulation of diterpenoids in cells and root organ culture of *Jatropha* species. Journal Plants Physiology. 150: 37-45. Brazil. 1997
77. QUIRCE, A.; Navarro, A.: Actualización sobre diuréticos. Unidad de Medicina Familiar y Comunitaria. Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad Miguel Hernández Florida. 2002
78. QURESHI, A.; Safi, A.; et al.: Phitochemical studies of the seed *Jatropha curcas* Linn. Orient. J. Chem. 7(1): 47-9.1991
79. QURESHI, A.; Saifi, A.; et al. Proteins and alkaloids of *Jatropha curcas* Linn. India. Orient J. Chemical. 6(4): 275.1995.
80. RAMIREZ, V.; Mostacero, L.; et al. : Vegetales empleados en medicina tradicional norperuana. Banco Agrario del Perú. 1998
81. REDDY, M.; Reddy, K.; et al.: A survey of plant crude drugs of anantapur district, Andhra Pradesh. Department Botany of university Tirupaty. India. 27(3): 145-55.1989
82. ROJANAPO W; Pimbua, J; et al. Failure of diterpenes from *Jatropha curcas* L. to induce mutation in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. In: Research communication in chemical pathology and pharmacology. 58(3) 397-400.1987. ISSN: 0034_5164.

83. RUG, M & Ruppel, A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* L. again intermediate snail host and larvae of schistosomes. *Tropical Medicine International Health*. 5(6): 423-30.2000. ISSN: 10929142.
84. SAMIA, M.; Badwi, E.; et al.: Toxic effects of low levels of dietary *Jatropha curcas* seed brown hise chicks. *Vet. Human Toxicol*. 34(2): 112-5.1992
85. SAMUELSSON, G.; Farah, M.; et al.: Inventory of plant used in traditional medicine in Somalia. *Journal of Pharmacology*. 1992
86. SINGH, Y.: Traditional medicine in Fiji. *J. Ethnopharmacol*. 15(1): 57-88. 1986
87. STAUBMANN, R.; Schubert Z.; et al. A complex of 5-hydroxypyrrolididn-2-one and pirimidine-2,4-dione isolated from *Jatropha curcas*. *Ins. Biotech. Tech. Univ. Graz. Graz. Austria. Phytochemistry*. 50(2): 337- 8.1999
88. STIRPE, F.; Pession, A.; et al. Studies on the proteins from seed of *Croton tiglum* and *Jatropha curcas*, toxic properties and inhibition of protein synthesis in vitro.
89. SUBRAMANIAN, S.S.; Nagarajan, S.; et al. Flavonids of some Euphorbiaceous plants. Department Chemical Jawaharlal. India. *Phytochemistry*. 10. 2548-9.1971.
90. TALAPATRA, S.K.; Mandal, K.; Talapatra, B. Jatrocuring, a new tetracyclic triterpene from *Jatropha curcas*. *Journal Indian Chemical Society*. 70(6): 543-8.1993
91. TORRES, Miguel: Protocolo de toxicidad aguda oral para la evaluación de productos naturales. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 2002.
92. Unpublished data, national cancer institute. 1976
93. VAN DEN BERG, A.J.; Hoarsten, S.F.A.J.; et al. Curcacycline A. a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* L.

University Utrecht. Utrecht. Netherlands. Febs Lett. 358(3): 215-18.1995

94.VILLARREAL, A.M; Dominguez, X.A; et al. Citlaltiriona a new diterpene from *Jatropha dioica* var. *sessiliflora*. In: Journal natural product. 1988. 51 (4): 749-53. ISSN: 0163-3864.

95.WEE, Y.; Gopalakrishnakone, P.; et al.: Poisonous Plant in Singapur. Toxicon. 26(1): 47. 1988

96.YASURAOKA, K.; Hashiguchi, J.; et al.: Laboratory assessment of the molluscicidal activity of the plant *Jatropha curcas* against *Oncomelania* snail. Japan Int. Coop. Agency: 110-12.1980.