



Instituto Politécnico Nacional
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

Evaluación del efecto diurético del extracto acuoso de *Parmentiera edulis*
D.C. (cuajilote). Obtención de la fracción responsable de la actividad
farmacológica

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN CIENCIAS
QUIMICOBIOLOGICAS

PRESENTA:

QFB. Georgina Valeria Zárate Rodríguez

DIRECTORA:

Dra. María Estela Meléndez Camargo

México, D.F., Julio, 2011.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México D. F., siendo las 15:30 horas del día 22 del mes de junio del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas para examinar la tesis titulada:

**Evaluación del efecto diurético del extracto acuoso de *Parmentiera edulis* D.C. (cuajilote).
Obtención de la fracción responsable de la actividad farmacológica**

Presentada por el alumno:

Zárate

Apellido paterno

Rodríguez

Apellido materno

Georgina Valeria

Nombre(s)

Con registro:

B	0	9	1	0	3	8
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

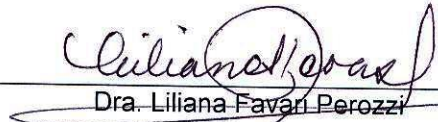
Maestría en Ciencias Quimicobiológicas

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director de tesis


Dra. María Estela Meléndez Camargo


Dra. Liliana Favari Perozzi


Dr. Héctor Jaime Salgado Zamora


Dra. María Elena Campos Aldrete

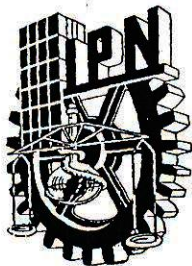

Dr. Rafael Silva Torres


Dra. María del Rocío Elizabeth Ortiz Butrón

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Manuel Jesús Piñón López





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F., el día 22 del mes Junio del año 2011, el (la) que suscribe Q.F.B. Georgina Valeria Zárate Rodríguez alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias Quimicobiológicas con número de registro B091038, adscrito a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. María Estela Meléndez Camargo y ceden los derechos del trabajo intitulado Evaluación del efecto diurético del extracto acuoso de *Parmentiera edulis* D.C. (cuajilote). Obtención de la fracción responsable de la actividad farmacológica, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección mcamargo@ipn.com, emelendezc@hotmail.com Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Q.F.B. Georgina Valeria Zárate Rodríguez
Nombre y firma del alumno

Dra. María Estela Meléndez Camargo
Nombre y firma del (los) director (es)

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
1. RESUMEN	
1.1 SUMMARY	
2. INTRODUCCIÓN	1
2. 1 ANTECEDENTES	4
2.1.1 Sistema urinario	5
2.1.2 Anatomía macroscópica de los riñones	6
2.1.3 Anatomía microscópica de los riñones	7
2.1.4 Presencia de patologías	9
2.1.5 Fármacos diuréticos	9
2.1.6 Clasificación de los diuréticos de acuerdo a su sitio de acción	10
2.1.7 Plantas con actividad diurética	12
2.1.8 <i>Parmentiera edulis</i> D. C. (cuajilote)	13
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	16
5. HIPÓTESIS	17
6. METODOLOGÍA	18
6.1 Planta	18
6.2 Extractos	18
6.2.1 Extractos acuosos	18
6.2.2 Extractos etanólicos	18
6.3 Animales	19
6.4 Actividad diurética de los extractos de <i>Parmentiera edulis</i> D. C.	19
6.4.1 Obtención de las muestras de suero y orina	19
6.4.2 Determinación de la osmolalidad	20
6.4.3 Determinación de electrolitos	20
6.4.4 Evaluación de la velocidad de filtración glomerular	20
6.5 Obtención de la fracciones con diferentes disolventes	21

6.6 DL ₅₀	22
6.7 Análisis estadístico	22
7.RESULTADOS	23
7.1 Estudio etnobotánico	23
7.2 Estudio fitoquímico preliminar	23
7.3 Evaluación de actividad farmacológica de los extractos de <i>Parmentiera edulis</i> D.C.	26
7.3.1 Efecto de los extractos en el efecto hídrico	26
7.3.2 Estudio sobre el efecto electrolítico	29
7.3.3 Velocidad de filtración glomerular	36
7.4 Determinación de la DL ₅₀	37
8. DISCUSIÓN	38
9. CONCLUSIONES	43
10. REFERENCIAS	44

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos acuosos y etanólicos de <i>Parmentiera edulis</i> D.C.	24
Tabla 2. Detección de los alcaloides y flavonoides en los extractos de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. obtenidos con diferentes disolventes	25
Tabla 3. Efecto de los extractos de <i>Parmentiera edulis</i> D. C. sobre la osmolalidad sérica y el balance hídrico	29
Tabla 4. Efecto de los extractos de <i>Parmentiera edulis</i> D. C. sobre las concentraciones séricas y las excreciones urinarias de sodio y potasio	30
Tabla 5. Efecto de los extractos de <i>Parmentiera edulis</i> D. C. sobre la velocidad de filtración glomerular y las excreciones fraccionales de sodio y potasio	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Imagen del Códice de la Cruz Badiano primer compendio de la flora medicinal mexicana	1
Figura 2. Diversidad estructural de metabolitos secundarios	2
Figura 3. Sistema urinario humano	6
Figura 4. Anatomía macroscópica del riñón	7
Figura 5. Estructura de la nefrona	8
Figura 6. <i>Parmentiera edulis</i> D. C.	13
Figura 7. Nombre común de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. en el municipio de Cuitláhuac, Estado de Veracruz.	23
Figura 8. Efecto de los extractos del fruto de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre el flujo urinario	26
Figura 9. Efecto de los extractos de la corteza de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre el flujo urinario	27
Figura 10. Efecto de los extractos de la flor de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre el flujo urinario	28
Figura 11. Efecto de los extractos del fruto de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre la depuración de sodio	31
Figura 12. Efecto de los extractos de la corteza de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre la depuración de sodio	32

Figura 13.	Efecto de los extractos de la flor de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre la depuración de sodio	33
Figura 14.	Efecto de los extractos del fruto de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre la depuración de potasio	34
Figura 15.	Efecto de los extractos de la corteza de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre la depuración de potasio	35
Figura 16.	Efecto de los extractos de la flor de <i>Parmentiera edulis</i> D.C. sobre la depuración de potasio	36

1. RESUMEN

El uso de la herbolaria en México, es una alternativa accesible y económica. Son diversas las especies utilizadas como diuréticas en nuestro país, como es el caso de *Parmentiera edulis* D.C. (Bignoniaceae), comúnmente conocida como cuajilote utilizada para afecciones renales lo cual no ha sido evaluada farmacológicamente para esta actividad, por lo que se planteó como **objetivo** evaluar el efecto diurético de *Parmentiera edulis* D.C. mediante pruebas de funcionamiento renal y obtener algunas fracciones con probable actividad diurética.

La especie se recolectó e identificó, se obtuvieron los extractos alcohólico y acuoso de la flor, la corteza y el fruto. Se les realizó el análisis fitoquímico y se valoró la actividad diurética. Se utilizaron ratas Wistar hembra adultas de 200 ± 20 g de peso corporal (p.c.), se formaron 5 grupos: el testigo (vehículo, 1 mL/kg de peso corporal (p.c.)), furosemida (4 mg/kg p.c.) y tres grupos fueron tratados con los extractos acuosos a una dosis única (100 mg/kg de p.c.). Se vaciaron las vejigas de los animales ($t=0$), se realizaron las administraciones por vía oral y se colocaron en jaulas metabólicas durante 6 horas ($t=6$). Concluido este tiempo se obtuvieron las muestras de suero y orina en las que se midieron la osmolalidad, las concentraciones de sodio, potasio y creatinina. Con estos datos se calcularon las depuraciones de creatinina, de agua libre, osmolal, de sodio y de potasio. Para obtener la fracción responsable del efecto se trabajó con la corteza, la flor y el fruto los cuales se fragmentaron y percolaron con 5 diferentes disolventes en orden de polaridad ascendente, los cuales fueron: hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol, se realizaron 2 extracciones con cada disolvente durante 24 horas y se concentraron a presión reducida. A las diferentes fracciones se les realizó el análisis fitoquímico. En las fracciones de acetato de etilo, cloroformo y metanol se detectaron alcaloides y flavonoides, posibles responsables de la actividad diurética. Con estas fracciones se llevó a cabo la evaluación de la actividad farmacológica con el mismo protocolo de los extractos acuosos. La dosis utilizada para estas fracciones fue de 50 mg/kg de p.c., *per os*.

En los extractos de la corteza, la flor y el fruto, se detectaron alcaloides, flavonoides, azúcares reductores, saponinas y quinonas, la en corteza, además, glucósidos cardíacos. En las fracciones de cloroformo, acetato de etilo y metanol, se detectaron flavonoides y alcaloides, considerados éstos por su probable actividad diurética. El flujo urinario y las depuraciones de sodio y potasio se incrementaron en todos los grupos respecto al testigo, los grupos tratados con la furosemida, el extracto acuoso de la flor, el extracto metanólico del fruto y los clorofórmicos de la corteza y la flor mostraron el mayor efecto ($P<0.05$). La velocidad de filtración glomerular no se modificó en ninguno de los grupos, lo que sugiere un efecto tubular renal directo. La dosis letal de los extractos fue superior a 20 g/kg de p.c.

Conclusiones: por los resultados obtenidos, se sugiere el uso de *Parmentiera edulis* D.C. como diurético. Y por los efectos inducidos por las diferentes fracciones permiten sugerir que los alcaloides y flavonoides son los responsables de la actividad diurética, de los diferentes órganos de la especie estudiados.

1.1 SUMMARY

The use of herbology in Mexico, is an accessible and economic alternative. Several species are used as diuretic in Mexican Folk Medicine. *Parmentiera edulis* D.C. (bignoniaceae), commonly known as cuajilote is used for renal diseases and has not been evaluated pharmacologically. The aim of this study is to evaluate the diuretic effect of *Parmentiera edulis* D.C. through tests of kidney function and to obtain the fraction with probably diuretic activity.

The species was collected and identified. Alcoholic and aqueous extracts of flowers, bark and fruit were obtained. The phytochemical analysis was carried out to both extracts. Wistar adult female rats of 200 ± 20 g of body weight (p.c.) were used. The animals were divided into 5 groups: the control group (vehicle, 1 ml/kg body weight (b.w.)), furosemide (4 mg/kg b.w.) and three treated groups with aqueous extracts (100 mg/kg of p.c.). The administration was *per os*. The bladders of animals were emptied ($t = 0$) and the rats were placed in metabolic cages for 6 hours ($t=6$). Serum and urine samples were obtained and the urinary flow was calculated. In both samples, osmolalities and creatinine, sodium and potassium concentrations were measured. The creatinine, free water, osmolal, sodium and potassium clearances were calculated. To obtain the responsible fraction, the bark, flowers and fruits were fragmented and placed to percolation with 5 different solvents in order of ascending polarity which were: hexane, chloroform, ethyl acetate, acetone y methanol, and then 2 extractions with each solvent during 24 hours were realized. After the extracts were concentrated at reduced pressure. Phytochemical analysis was carried out to all fractions. Alkaloids and flavonoids in chloroform, ethyl acetate and methanol were detected, these metabolites probably induced diuretic activity. The same protocol for these fractions was carried out. The extracts were evaluated at doses of 50 mg/kg b.w.

Saponins, alkaloids, flavonoids and reducing sugars were found in the aqueous extracts from bark, flower and fruit, additionally, glycosides in bark extract. In Chloroform, ethyl acetate and methanol fractions, flavonoids and alkaloids were detected. Urinary flow, the excretions and clearance of sodium and potassium increased in all groups with respect to control group. Furosemide, aqueous extract of flower, fruit methanolic extract and chloroformic extract of bark and flower induced the major effect ($P<0.05$). The VFG was maintained unchanged in all groups, which suggests a renal tubular effect. The lethal dose of extracts was more than 20 g/kg of p.c.

Conclusion: by the results obtained, it was suggested the use of *Parmentiera edulis* D.C. as diuretic and was validated the traditional use of this specie.

2. INTRODUCCIÓN

México es un país con una gran diversidad biológica, el uso de plantas medicinales data desde tiempos prehispánicos y ha quedado documentada en diferentes códigos, uno de los más importantes es el de la Cruz Badiano (figura 1).

Los remedios herbales son un recurso importante de la medicina tradicional tanto en las comunidades rurales, como en las zonas urbanas, donde se emplean una diversidad de plantas como solución alternativa a los síntomas y signos de diversos problemas de salud (Meckes et al., 2004).

Como pasa en el resto del mundo, la medicina tradicional o etnomedicina proviene de una serie de prácticas empíricas originadas por la transmisión oral de conocimientos de generación en generación, con el intento de solucionar problemas de salud. La medicina tradicional en sectores desprotegidos de la sociedad es la base primaria para el cuidado de la salud, su valor radica además en el arraigado conocimiento y la fe que se tiene en las plantas como medicamentos; su fácil disponibilidad y su relativo bajo costo hacen de estas alternativas terapéuticas (Upadhyay et al., 2010).



Figura 1. Imagen del Códice de la Cruz Badiano, primer compendio de la flora medicinal mexicana

Metabolitos secundarios

Las actividades farmacológicas que presentan algunas especies naturales son debidas a la presencia de los llamados metabolitos secundarios (figura 2), que desempeñan al parecer funciones de defensa (contra herbívoros, microbios y virus) (Quirino et al., 2010). Son importantes para la supervivencia y la aptitud reproductiva de la planta.

Estas sustancias químicas hacen que determinadas plantas sean útiles en la prevención y alivio de diversas enfermedades y padecimientos; de ahí entonces que su conocimiento sea potencialmente explotable en países que tienen limitados recursos para la producción y la importación de medicamentos. Por lo que los remedios herbales son de vital importancia en el tratamiento de las enfermedades.

El planteamiento de la evaluación científica de los remedios herbales, es tratar de conocer su seguridad, y extender recomendaciones acerca de la posología adecuada según el trastorno agudo o crónico, ya que la planta al ser natural no le confiere inocuidad a los remedios herbales, y es necesario conocer sus efectos secundarios, así sean mínimos (Wright et al., 2007).

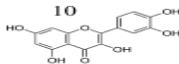
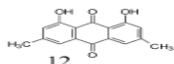
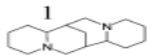
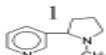
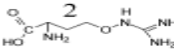
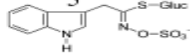
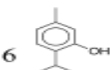
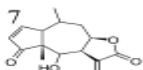
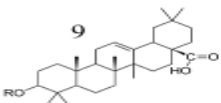
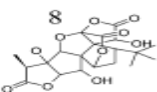
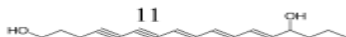
Con Nitrógeno				
1 Alcaloides	12,000			
2 Aminoácidos no proteicos	700			
3 Aminas	100			
4 Glucósidos 6cianogénicos	600			
5 Glucosinolatos	100			
Alkamidas	150			
Sin nitrógeno				
6 Monoterpenos	2,500			
7 Sesquiterpenos	5,000			
8 Diterpenos	2,500			
9 Diterpenos, saponinas, esteroides	5,000			
Tetraterpenos	500			
Fenilpropanoides, coumarinas, lignanos	2,000			
10 Flavonoides	4,000			
11 Poliacetilenos, ácidos grasos	1,000			
12 Policetidos	750			
Carbohidratos	200			

Figura2.Diversidad estructural de metabolitos secundarios (Wink, 2003)

Estos metabolitos se encuentran en diversas especies vegetales, algunas ya explotadas comercialmente, sin embargo, algunas a pesar de conocer su efecto tradicionalmente no han sido evaluadas científicamente, como es el caso de las plantas con probable actividad diurética.

Los diuréticos han sido los fármacos inmersos en el control y manipulación de selectos aspectos de la función renal, éstos desde su descubrimiento para el tratamiento de condiciones edematosas, han disfrutado de una expansión clínica demandante y al pasar de los años para otros tratamientos como ha sido la hipertensión, todo esto en paralelo a fármacos antihipertensivos y vasodilatadores. (Lant, 1981).

La exigencia actual, es la entrada al mercado de diuréticos cada vez más eficaces sobre sus prototipos originales, con mayor grado de sofisticación, mayor seguridad, de uso generalizado que no sólo se dirijan al manejo de electrolitos, que de manera inevitable genera desbalances en la homeostasis; todas estas exigencias elevan su costo haciéndolos poco accesibles a sectores marginados.

2.1 Antecedentes

La historia de cómo la vida apareció en la tierra es larga y aún no se entiende completamente, en general se acepta que la tierra se formó hace 4600 millones de años. Sin embargo, los primeros organismos vivos: bacterias y células procariotas unicelulares no aparecieron hasta 800 millones de años más tarde, seguido por las primeras cianobacterias fotosintéticas hace 3100 millones de años. La producción de oxígeno por estos organismos y su eventual acumulación en la atmósfera, finalmente causó la primera extinción masiva de organismos anaerobios (hace 2000 millones de años). Las briofitas terrestres datan de hace 550 millones de años, seguidas por las plantas vasculares de hace 440 millones de años. Se cree que otras especies como hongos y líquenes aparecieron no mucho antes de las primeras briofitas, los primeros bosques formados principalmente por árboles primitivos aparecieron durante este período. Es importante destacar que los insectos aparecieron sólo 40 millones de años después y desde entonces ambos reinos han estado viviendo juntos (Macías et al., 2007).

El propósito de esta descripción es señalar que, si bien las plantas están entre los más antiguos organismos, han estado compartiendo el planeta con insectos, bacterias y hongos casi desde el principio y han competido por su supervivencia.

Mientras las plantas intentaban defenderse de los ataques de los insectos y las enfermedades causadas por microbios, estos organismos patógenos trataban de superar los mecanismos de defensa de las plantas, una de las hipótesis es que el proceso de esta acción–reacción causó la coevolución de plantas llevando a la gran biodiversidad de hoy en día. Esta biodiversidad puede observarse no sólo en el enorme número de especies presentes en la naturaleza, sino también en el gran número de metabolitos secundarios de diversa composición química (Asakawa, 2003).

La actividad farmacológica de las plantas se atribuye a la acción y sinergia de los metabolitos presentes en éstas. Los metabolitos son constituyentes esenciales para su supervivencia y funcionamiento, protegen contra los ataques de herbívoros y

microorganismos, son reguladores de crecimiento y participan en el control de la polinización y la fertilización (Robins et al., 2007).

Los diuréticos son ampliamente usados en terapéutica ambulatoria y hospitalaria, para ejemplificar esto, la mayoría de los pacientes hospitalizados por problemas cardíacos, reciben diuréticos dentro de su posología y de un 25 a 30% de pacientes desarrolla resistencia, como consecuencia de ésta hay una reducción de la diuresis y natriuresis (Costanzo et al., 2005). De aquí parte la necesidad de encontrar moléculas con potencial farmacológico para convertirse en fármacos diuréticos con la eficacia de los actuales, pero con menos efectos adversos; muchos medicamentos han surgido de productos de origen natural, por lo cual debe iniciarse la propuesta de evaluaciones de plantas con potencial farmacológico.

2.1.1 Sistema urinario

Los riñones son órganos vitales tradicionalmente relacionados con la excreción de productos de desecho por medio de la orina, que se genera en los glomérulos con el ingreso del ultrafiltrado plasmático, (el sistema urinario completo se muestra en la figura 3). Sin embargo, estos órganos tan complejos, poseen otras funciones fundamentales. Sobre todo tienen a su cargo el mantenimiento del volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de límites fisiológicos aceptables. Actúan asimismo, en la regulación de la presión arterial y en la conservación de la concentración de eritrocitos. Son clave determinante en la farmacocinética de numerosos fármacos y el sitio blanco primario de los diuréticos. La pérdida de la función renal, total o parcial, acarrea consecuencias fisiopatológicas que van desde cambios bioquímicos asintomáticos hasta la muerte (Aronson, 1998).

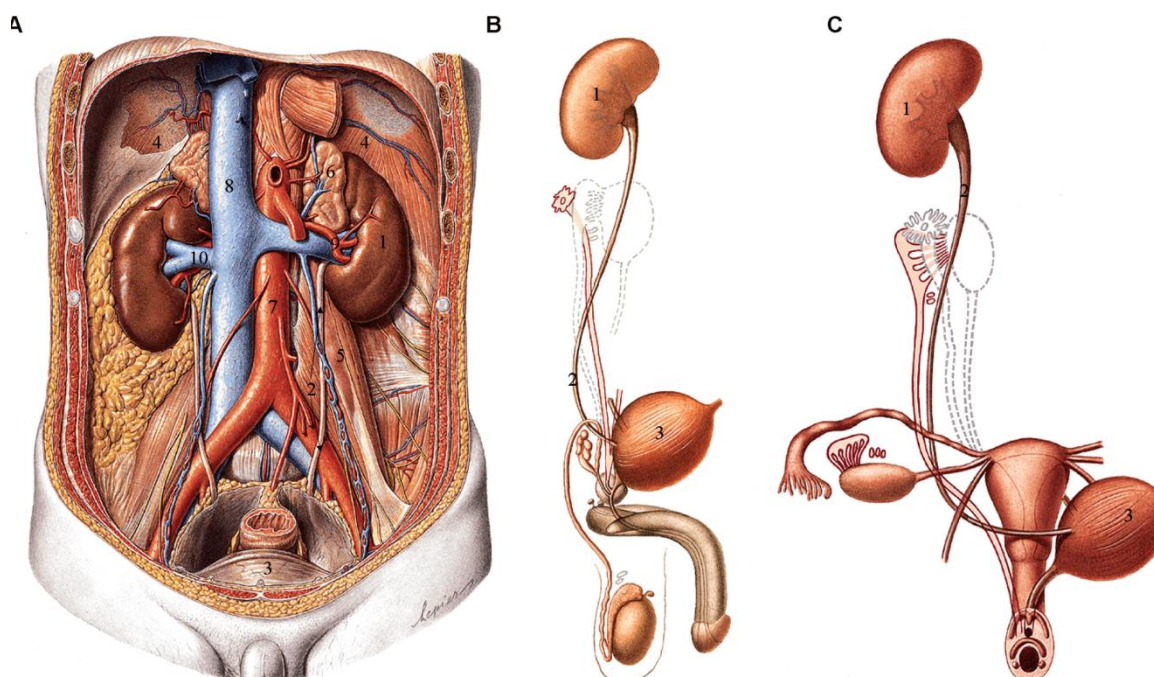


Figura 3. Sistema urinario humano: (1) riñón, (2) uréter, (3) vejiga, (4) diafragma, (5) músculo psoas mayor, (6) glándula adrenal, (7) aorta abdominal, (8) vena cava inferior, (9) arteria renal, y (10) vena renal (Hallgrimsson et al., 2003)

2.1.2 Anatomía macroscópica de los riñones

Los riñones son órganos pares situados en la zona retroperitoneal de aproximadamente 12 cm de longitud, ubicados entre la primera y la tercera vértebra lumbar; el de la derecha tiene una situación algo inferior respecto al izquierdo. Cada uno de ellos pesa alrededor de 115 y 170 g en un humano adulto.

Un corte transversal del riñón revela la corteza más pálida (figura 4), de aproximadamente 1 cm, con el área medular más oscura dividida en pirámides por columnas corticales (columnas renales o de Bertín). Las bases de las pirámides terminan en la corteza y contienen los rayos medulares, que en realidad están formados por segmentos rectos de los túbulos proximales y distales, y por los conductos colectores. Los ápices de las pirámides forman las papilas (de 8 a 18 por riñón) que están perforadas por los orificios de los túbulos colectores de Bellini. Las papilas desembocan en los cálices, los cuales por coalescencia constituyen la pelvis renal, que a su vez drena en el uréter. Los uréteres siguen

un recorrido descendente en el área retroperitoneal sobre el borde pelviano y hacia la vejiga, la cual excreta la orina por la uretra (Aronson, 1998).

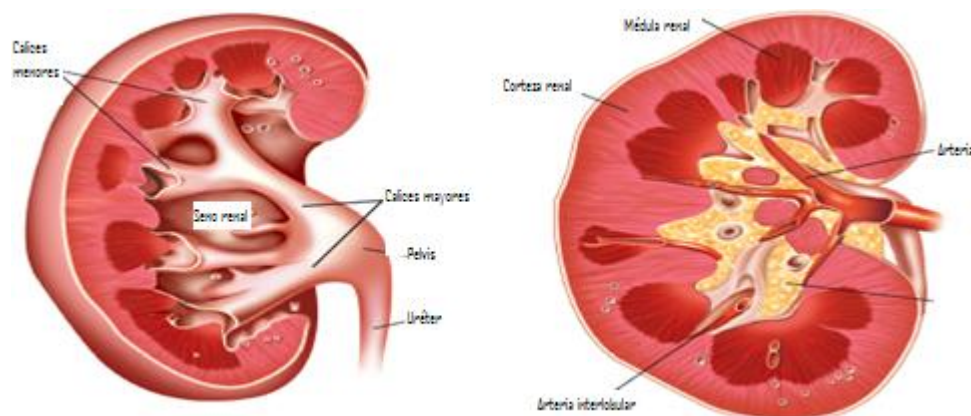


Figura 4. Anatomía macroscópica del riñón (Hallgrimsson et al., 2003)

2.1.3 Anatomía microscópica de los riñones

El riñón está dividido en unidades funcionales denominadas nefronas; en cada riñón humano existen entre 800,000 y 1,200,000 nefronas. Está compuesta por un glomérulo y un túbulo que lo drena. El túbulo se halla dividido en un túbulo contorneado proximal, un túbulo recto proximal, el segmento descendente del asa de Henle, el segmento delgado ascendente del asa de Henle, el segmento grueso ascendente del asa de Henle, el túbulo contorneado distal, el segmento intermedio, los conductos colectores corticales y los conductos colectores medulares (figura 5). Hay dos poblaciones distintas de nefronas. Un grupo de nefronas (85%) está situado en la corteza externa y tienen asas de Henle que no descienden hasta la médula o por lo menos no lo hacen hasta la médula interna. La división del asa de Henle en segmentos delgados y gruesos no es muy definida. El segundo grupo de nefronas tiene glomérulos en el área yuxtamedular, y segmentos delgados descendentes del asa de Henle bien desarrollados que llegan a las porciones mas internas de la médula (Aronson, 1998).

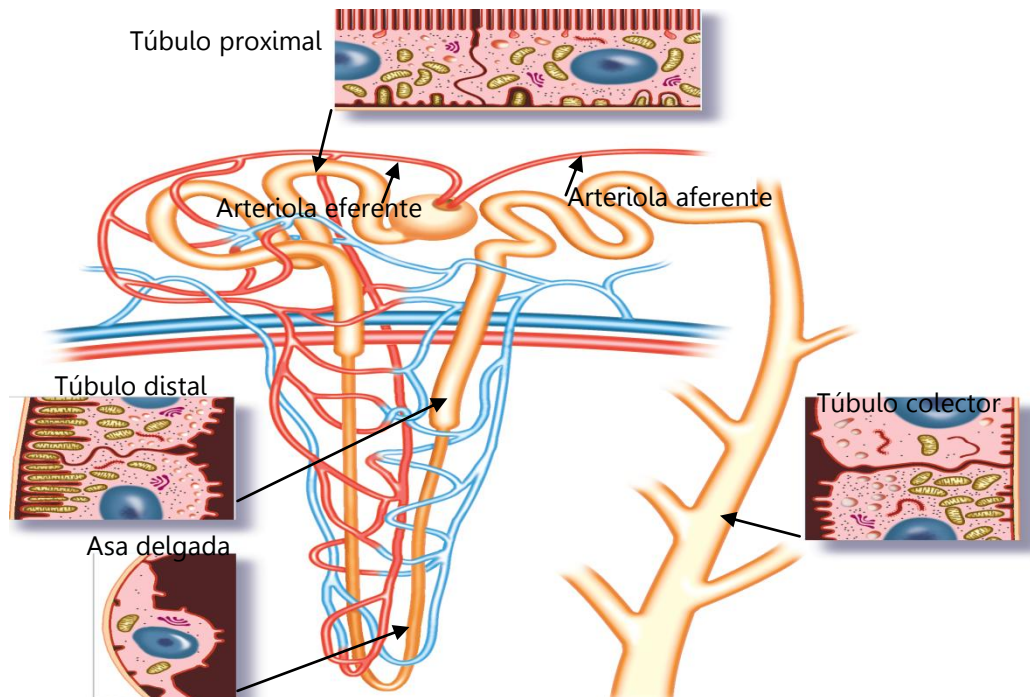


Figura 5. Estructura de la nefrona (Hallgrímsson et al., 2003)

Función de la nefrona

La función de la nefrona es la ultrafiltración del plasma y luego, la modificación del ultrafiltrado, reabsorbiendo sustancias del mismo o secretando el material para mantener el volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de estrechos límites fisiológicos. Específicamente, el riñón regula el volumen y la tonicidad de los líquidos corporales, contribuye a la regulación ácido-base, regula el equilibrio del potasio y del fosfato, contribuye a la regulación de la homeostasis del calcio y el magnesio, excreta productos de desecho como urea y ácido úrico, y conserva nutrientes importantes tales como la glucosa y los aminoácidos.

Para realizar estas innumerables funciones de regulación la nefrona debe equilibrar los procesos de filtración, reabsorción y secreción de varias sustancias simultáneamente, y efectuar varias funciones por separado en el mismo segmento de la nefrona (Aronson, 1998).

2.1.4 Presencia de patologías

Una enfermedad renal causa diversos síndromes clínicos que se pueden reconocer con la presencia o no de hiperazoemia, proteinuria, hipertensión, edema, análisis de orina anormal, alteraciones hidroelectrolíticas, y volumen de orina anómalo o infección.

La presencia de una enfermedad de tipo renal como el edema modifica la homeostasis del cuerpo, la eliminación de fármacos y de las sustancias de desecho del cuerpo necesitando de algún tratamiento farmacológico para corregir o revertir el daño y estos fármacos son los diuréticos.

2.1.5 Fármacos diuréticos

Los fármacos que bloquean las funciones de transporte de los túbulos renales son valiosas herramientas clínicas en el tratamiento de estos trastornos. Desde la antigüedad se han descrito sustancias que aumentan el flujo de orina, pero fue hasta 1957 cuando se dispuso de la clorotiazida que es un diurético práctico y potente de uso generalizado (Ives, 2005).

Los diuréticos son un grupo importante que estimula la excreción renal de agua y electrolitos con el objetivo fundamental de conseguir un balance de agua. Sin embargo, directa o indirectamente pueden modificar otros iones y alterar otras funciones (Zillich, 2006), de ahí que se utilicen también en otras enfermedades como en la hipertensión arterial, las hipercalcemias, la diabetes insípida, el glaucoma, las intoxicaciones, la insuficiencia cardíaca y la congestión pulmonar (Jackson, 1996).

La razón más común para administrar diuréticos es la reducción del edema periférico o pulmonar que se ha acumulado como consecuencia de anormalidades en la presión oncótica sanguínea o por enfermedades cardíacas, renales o vasculares.

Durante la insuficiencia cardiaca, el gasto se encuentra disminuido, los cambios resultantes en la presión arterial y el flujo sanguíneo al riñón se perciben como hipovolemia, por tanto, inducen la retención renal de sal y agua; si la enfermedad de fondo causa deterioro del funcionamiento cardiaco a pesar de la expansión del volumen plasmático, el riñón continua reteniendo sal y agua, que después escapan de la vasculatura y se vuelven edema intersticial o pulmonar. El uso de diuréticos se vuelve necesario en el tratamiento del edema.

Las enfermedades del hígado se acompañan de edema y ascitis, junto con el aumento en las presiones hidrostáticas porta y la reducción de las presiones oncóticas del plasma. Cuando se vuelven graves, el uso de los diuréticos puede ser de utilidad para iniciar y mantener la diuresis (Ives, 2005).

2.1.6 Clasificación de los diuréticos de acuerdo a su sitio de acción

Muchos diuréticos ejercen sus efectos en las proteínas de transporte de las membranas específicas en las células epiteliales tubulares renales. Otros ejercen efectos osmóticos que previenen la reabsorción de agua, inhiben enzimas o interfieren en la acción de receptores hormonales en las células epiteliales renales (Ives, 2005).

Inhibidores de la anhidrasa carbónica

La anhidrasa carbónica está presente en muchos sitios de la nefrona pero principalmente en la membrana luminal del túbulo proximal de las células. Los inhibidores de la anhidrasa carbónica de los cuales el prototipo es la acetazolamida, bloquean la reabsorción de bicarbonato de sodio, causando diuresis.

Diuréticos de asa

Inhiben selectivamente la reabsorción de NaCl en la rama ascendente gruesa del asa de Henle. Debido a la gran capacidad de absorción de NaCl de este segmento y al hecho de que la diuresis no se limita por el desarrollo de acidosis, como sucede con los inhibidores

de la anhidrasa carbónica, éstos son los agentes diuréticos disponibles más eficaces. Los fármacos prototipo son la furosemida y el ácido etacrínico (Ives, 2005; Jackson 1996).

Tiazidas

Inhiben el transporte de NaCl predominantemente en el túbulo contorneado distal. Sin embargo, algunos miembros de este grupo retienen una significativa actividad inhibidora de la anhidrasa carbónica, la tiazida prototipo es la hidroclorotiazida (Ives, 2005; Jackson 1996).

Diuréticos ahorradores de potasio

Reducen la reabsorción de sodio en la primera porción del túbulo distal y en menor proporción antagonizan los efectos de la hormona aldosterona en el túbulo colector.

Cada segmento de la nefrona posee en su epitelio mecanismos especializados para el transporte de determinados iones; por lo tanto, la acción del diurético en un segmento determinado provocará un patrón característico de eliminación de agua y electrolitos. Y, viceversa, a partir de un patrón de eliminación iónica se puede deducir, al menos de manera aproximada, el segmento donde el diurético actúa.

Toxicidad de los diuréticos

Este grupo de fármacos no está exento de tener acciones tóxicas como pueden ser la hipovolemia, la hiponatremia, la hipocalemia, la hiperpotasemia, la alcalemia, la acidemia, la hiperuricemia y la intolerancia a la glucosa; que se pueden predecir sobre la base de sus mecanismos y sitios de acción (Aronson, 1998).

En ocasiones, un paciente puede no tener respuesta a los diuréticos como consecuencia de una incorrecta administración o de una serie de fenómenos fisiopatológicos que anulan su eficacia. Es obvio que un diurético debe ser administrado en la dosis apropiada y por la vía más conveniente para que resulte efectivo. Cuando se

administra un diurético de modo adecuado y no tiene efecto, la razón más probable es que haya una entrega inadecuada de sodio en el sitio de acción del diurético.

Cualquier circunstancia que reduzca la perfusión renal y el flujo de orina anulará la efectividad del diurético. De esta manera, la insuficiencia cardíaca, la insuficiencia hepática y la hipovolemia modifican la acción diurética. La insuficiencia renal en sí hace poco probable que los diuréticos actúen eficientemente y aumenta los efectos tóxicos de estos por acción directa sobre los tejidos extrarrenales (Aronson, 1998).

2.1.7 Plantas con actividad diurética

Las plantas constituyen un remedio accesible para el tratamiento de diversas patologías y proponen una fuente económica y segura de principios activos con propiedades farmacológicas. Son ampliamente usadas en las diferentes regiones rurales de México, ya que pueden ser recolectadas en su forma silvestre, de huertos familiares o adquiridas en un mercado.

Durante décadas se han realizado investigaciones acerca de los metabolitos secundarios y su papel como componentes de las vías bioquímicas, de la dieta humana y su uso como biomarcadores para una amplia gama de circunstancias biológicas. Además, una evaluación sistemática de todos los metabolitos dentro de una sección determinada de la red metabólica, puede facilitar la elucidación de sitios reguladores claves del metabolismo (Ferne, 2007).

Dentro de las especies que no han sido evaluadas como diuréticas se encuentra el cuajilote.

2.1.8 *Parmentiera edulis* D. C. (cuajilote)

Es conocida comúnmente como: yuc kat kut, katku ´uk, kat kuuk, pepinocat o tzon tesa nion (maya), chote, pepino de árbol, tzote (huasteca) y cuajilote.

Es un árbol que crece de México a Guatemala, que raras veces alcanza los 9 metros de altura, sus hojas trifoliadas con peciolo alado son arracimadas en los nodos de las ramas espinosas de éste, se usa la corteza, las flores y el fruto. Las flores son grandes, blancas-verdosas, nacen individualmente o en racimos en las puntas de la rama es un estadio que se desarrolla a fruto; el fruto es amarillo con una longitud que va desde los 5 a 15 cm y de 3 a 5 cm de diámetro (figura 6).

El fruto es usado como comestible crudo o cocinado con actividades hipoglucemiante y antigonorréica; además se le asignan otros usos como son el alivio del dolor de cabeza, de la sordera, para tratar cálculos biliares, en la diarrea, en el empacho, en la hidropesía y para purificar la sangre (Argueta et al, 1994, Cáceres et al, 1995, Pérez et al, 1998, Pérez et al, 2000).

Es una especie ampliamente distribuida en las regiones de clima caliente de México, Sinaloa, Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Nayarit, Colima, Michoacán, Morelos, Puebla, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Campeche, llegando su área natural hasta El Salvador y Honduras.

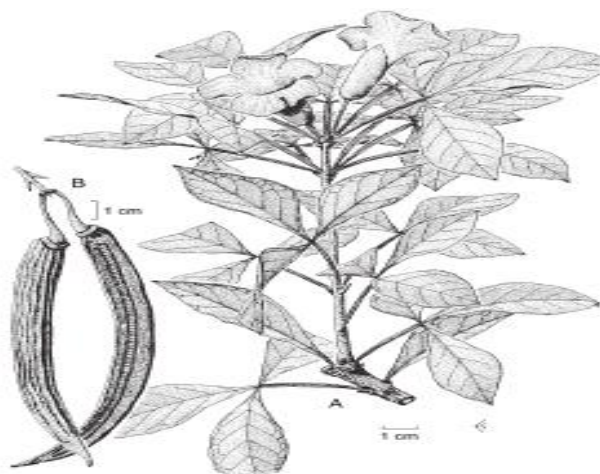


Figura 6. *Parmentiera edulis* D.C.: A. rama con flores; B. frutos (Rzedowski y Rzedowski, 1993)

Se ha empleado en el tratamiento de la diabetes mellitus. Se evaluó el efecto del extracto clorofórmico del fruto y se observó un efecto hipoglucemiante similar al de la tolbutamida, esta actividad es conferida por la lactucin-8-0-milacrilato; además otra investigación con extracto etanólico demostró la actividad antigonorréica de esta especie (Pérez et al., 1998; Pérez et al., 2000; Cáceres et al., 1995). Es además usado en la medicina tradicional mexicana para aliviar dolores renales y como diurético sin que hasta la fecha se haya demostrado científicamente esta última actividad, por lo que en esta investigación será el objeto del estudio.

3. JUSTIFICACIÓN

Los diuréticos se prescriben para tratar diversos padecimientos clínicos, sin embargo tienen gran cantidad de efectos adversos, por lo que la población recurre al uso de plantas medicinales. Tal es el caso de *Parmentiera edulis* D.C., conocida comúnmente como cuajilote y utilizada popularmente por sus propiedades diuréticas. De acuerdo a Abdala y colaboradores (2008), cada órgano de las especies vegetales son de interés especial, ya que en éstos se pueden encontrar numerosas sustancias químicas con probable actividad farmacológica, por lo cual se decidió en este estudio emplear la corteza, flor y fruto para no descartar de inicio alguna parte de la planta que nos brindara información valiosa sobre ésta. Aunque de inicio el interés ya estaba dirigido hacia alcaloides y flavonoides ya que en plantas con acción diurética comprobada se han aislado estos metabolitos como responsables de la actividad (Arafat et al, 2008; Nedi et al, 2004; Benjumea et al, 2005; Abdala et al, 2008). En este estudio se pretende dar sustento científico a las propiedades diuréticas empíricamente atribuidas a esta especie vegetal, así como obtener la fracción responsable del efecto.

4. OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar el efecto diurético de *Parmentiera edulis* D.C. y obtener la fracción responsable de la actividad farmacológica

4.1 Objetivos particulares

- Realizar la recolección e identificación de la especie
- Realizar el estudio etnobotánico
- Obtener los extractos etanólico y acuoso de la flor, el fruto y la corteza
- Realizar el análisis fitoquímico de los extractos
- Evaluar el efecto diurético de los extractos acuosos, de acetato de etilo del fruto, los clorofórmicos de la corteza y la flor y los metanólicos del fruto, la corteza y la flor, por medio de los parámetros de velocidad de filtración glomerular y el balance hídrico y electrolítico
- Determinar la DL_{50} del extracto acuoso de *Parmentiera edulis* D.C.
- Obtener las fracciones más ricas en metabolitos secundarios con posible actividad diurética y evaluarlas farmacológicamente

5. HIPÓTESIS

Dentro de las propiedades atribuidas de forma empírica a *Parmentiera edulis* D. C. se encuentra la diurética, el estudio etnobotánico, fitoquímico, farmacológico y de toxicidad aguda de los extractos de la flor, la corteza y el fruto permitirán validar el efecto diurético atribuido a esta especie y se establecerá la fracción responsable de la misma

6. METODOLOGÍA

6.1 Planta

La especie se recolectó en el municipio de Cuitláhuac, zona central del Estado de Veracruz, a una altura de 380 metros sobre el nivel del mar. Su orografía es intermedia entre montaña y la llanura. Con un clima cálido-seco-regular con una temperatura promedio de 25.2° C. En gran porcentaje se utiliza para la agricultura y como forraje. Fue autenticada como *Parmentiera edulis* D.C. por la bióloga Laura Doval Ugalde en el Departamento de Botánica de la ENCB. Para la realización del **estudio etnobotánico** se realizaron y documentaron encuestas a los habitantes de este municipio.

6.2 Extractos

6.2.1 Extractos acuosos

- Los extractos de la corteza, la flor y el fruto se obtuvieron por decocción, fraccionando la parte de la planta en una porción de agua destilada y se llevó a ebullición durante 5 minutos.

6.2.2 Extractos etanólicos

- De la corteza, la flor y el fruto se obtuvieron por maceración con etanol, el cual se mantuvo a temperatura ambiente por una semana. Se realizaron reacciones de identificación para los metabolitos secundarios presentes en el macerado mediante ensayos de coloración y precipitación correspondiente al análisis fitoquímico preliminar de acuerdo al método propuesto por Domínguez (1978).

6.3 Animales

Se utilizaron ratas Wistar hembras adultas de 200 ± 20 g, las cuales se mantuvieron en el bioterio a la temperatura de 22 a 24° C y a una humedad relativa de 50 a 55%. Los ciclos de luz/obscuridad fueron de 12 x 12 horas. Se mantuvieron con alimento estándar para roedores y agua *ad libitum*. Sus cuidados fueron de acuerdo a la *Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999* y a procedimientos internacionales aceptados.

6.4 Actividad diurética de los extractos de *Parmentiera edulis* D.C.

Las ratas se distribuyeron en 5 grupos: el grupo testigo al que se le administró el vehículo (agua 1 mL/kg p. c.), el grupo tratado con furosemida (4 mg/kg p. c.) y los tres grupos restantes recibieron los extractos acuosos de la flor, el fruto y la corteza de *Parmentiera edulis* D. C. (100 mg/kg p. c.) respectivamente, en todos los casos la administración fue *per os*. En el caso de los extractos de disolventes de las partes de la especie con diferentes disolventes, la dosis fue de 50 mg/kg p.c. El número de animales no fue menor a 6 en todos los grupos estudiados.

6.4.1 Obtención de las muestras de suero y orina

Al inicio del experimento a todas las ratas se les hizo un vaciado de vejiga por ligera compresión del abdomen. Ya logrado el vaciamiento completo de la vejiga, se administraron los diferentes tratamientos a los grupos correspondientes.

Las ratas se mantuvieron durante 6 horas en cajas metabólicas en un ambiente de $22 \pm 2^\circ$ C, sin alimentos, ni líquidos para la recolección de la orina. Al término de este tiempo, se hizo nuevamente una compresión del abdomen, la orina se colectó con pipetas calibradas para medir el volumen urinario (Meléndez et al., 2006) y posteriormente se obtuvieron las muestras de sangre que fueron centrifugadas para la obtención del suero.

6.4.2. Determinación de la osmolalidad

A las muestras de suero y orina se les midió por triplicado la osmolalidad en un osmómetro de presión de vapor Wescor 5500, por triplicado. Se calcularon la Osmolalidad urinaria/Osmolalidad sérica (U/P), la depuración osmolal y la depuración de agua libre.

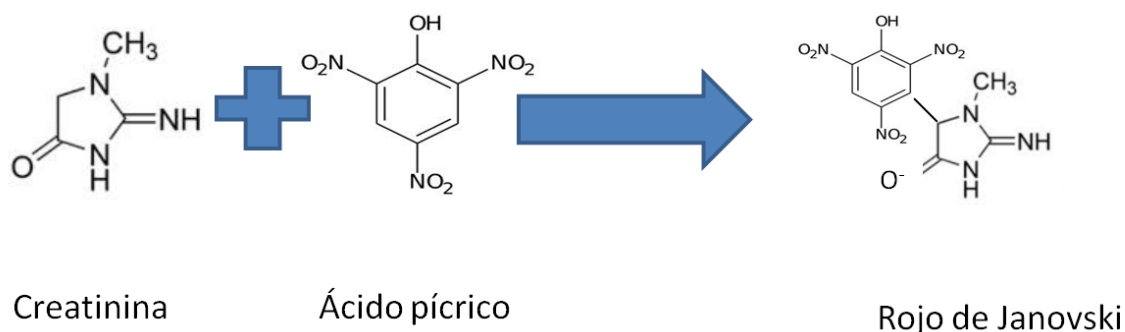
6.4.3 Determinación de los electrolitos

Se evaluó el efecto de los extractos acuosos sobre el balance electrolítico midiendo las concentraciones de sodio y potasio tanto en la orina como en el suero por flamometría; se calcularon las excreciones urinaria de sodio y potasio, así como las depuraciones de sodio y de potasio.

El método de emisión de llama emplea el calor de llama aire-propano que vaporiza las soluciones salinas que ganan electrones (tomados de los gases que se reducen) y forman los átomos Na^0 y K^0 en su estado fundamental (Korzun, 1990).

6.4.4 Evaluación de la velocidad de filtración glomerular

Se empleó el método de Jaffe modificado para determinar la concentración de creatinina en suero y orina, basado en la reacción de creatinina con una solución alcalina de picrato de sodio formando un complejo rojo de Janovski. La absorbancia se mide a 510 y 520 nm aunque su máximo se encuentra en los 485 nm, el ion picrato presenta una absorción significativa a longitudes de onda inferiores a 500 nm. Cuando se debe analizar suero o plasma en una reacción de punto final, se emplea un filtrado libre de proteínas ya que los grupos de α -cetometilo o α -cetometileno que se encuentran en las proteínas reaccionan con el picrato alcalino dando complejos muy coloreados.



La reacción se realiza a temperatura constante inferior a 30°C, a temperaturas más elevadas la glucosa, el ácido úrico y el ácido ascórbico pueden reducir el picrato cuyo máximo de absorbancia se encuentra a 482 nm, lo que provoca una sobrevaloración de la creatinina. La constancia de la temperatura es importante ya que la absorbancia del ión picrato y del producto de la reacción (creatinina-picrato) aumentan al elevar la temperatura. La reacción no se realiza a pH regulado pero se lleva a cabo con NaOH.

Se calculó la depuración de creatinina (mL/min), la excreción fraccional de sodio y potasio (Pesce, 1999).

6.5 Obtención de las fracciones con diferentes disolventes

La corteza, la flor y el fruto se fragmentaron y se percolaron con 5 diferentes disolventes en orden de polaridad ascendente los cuales fueron: hexano, CHCl₃, AE, A y MeOH. Se realizaron 2 extracciones con cada disolvente durante 24 horas para cada una. Cada fracción se concentró a presión reducida en rotavapor y se les realizó el análisis fitoquímico, después del cual se seleccionaron las fracciones de acetato de etilo, cloroformo, hexano y metanol en las que se detectaron alcaloides y flavonoides, posibles responsables de la actividad diurética. Con estas fracciones se llevó a cabo la evaluación de la actividad farmacológica siguiendo el mismo protocolo.

6.6 Determinación de la dosis letal 50 (DL₅₀)

Para la determinación de la DL₅₀, se utilizaron 28 ratones macho de 25 ± 3 g de peso corporal, los cuales se distribuyeron aleatoriamente en 10 lotes, el primer lote fue el testigo (vehículo), a los lotes restantes se les administró por vía oral la dosis 5, 10 y 20 g/Kg de p.c., para cada uno de los extractos acuosos de la corteza, la flor y el fruto. Los animales se observaron durante 6 horas después de la administración y durante catorce días se mantuvieron monitoreados contando los animales vivos y muertos.

6.7 Análisis estadístico

Los resultados fueron evaluados con un análisis de varianza unifactorial (ANOVA) y como prueba post hoc la prueba de SNK. Se consideró como significancia una $P < 0.05$, el programa usado fue el SigmaPlot 11.0.

7. RESULTADOS

7.1 Estudio etnobotánico

En el estudio etnobotánico se encontró que el nombre más común de la especie es cuajilote (figura 7), principalmente usado como forraje y remedio de malestares renales, preparado en forma de decocción, 1 fruto maduro o 5 flores en 250 mL de agua de 1 a 3 días o hasta que desaparece el dolor.

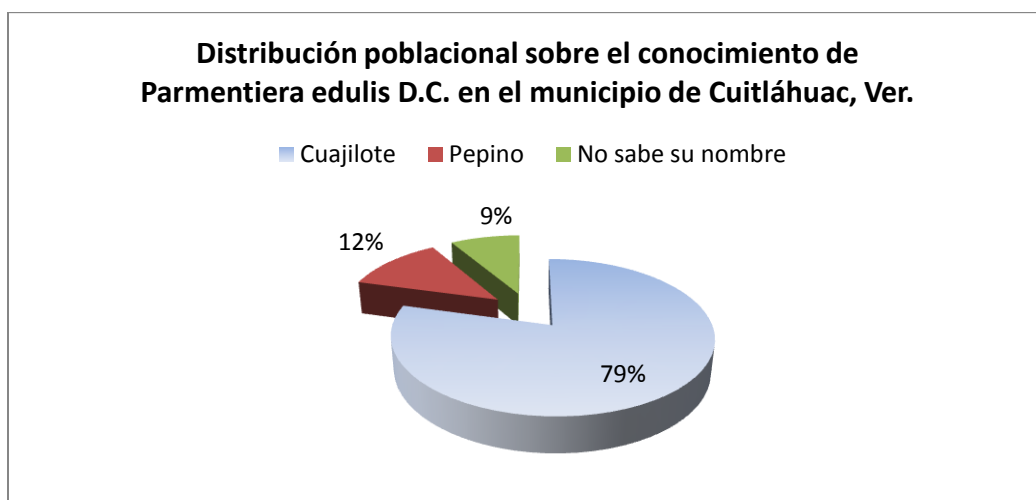


Figura7. Nombre común de *Parmentiera edulis* D.C. en el municipio de Cuitláhuac, Estado de Veracruz.

7.2 Estudio fitoquímico preliminar

El estudio fitoquímico preliminar detectó la presencia de diferentes metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Parmentiera edulis* D.C. que se muestran en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos acuosos y etanólicos de *Parmentiera edulis* D.C.

	Flor	Fruto	Hojas	Corteza
Alcaloides	++	++	+	++++
Azúcares reductores	+++	++++	++	++
Flavonoides	+	+		+++
Glucósidos cardiacos		++++		+++
Saponinas	++	++	++	+++
Quinonas	+++	++++	+++	++++
Taninos			+	

++++ =Abundante, +++=Moderado, ++=Bajo, +=Escaso

En todos los extractos se detectaron flavonoides y alcaloides, estos últimos más abundantemente en corteza, los cuales están involucrados en el efecto diurético, por lo que serán considerados para tratar de obtener las fracciones que los contengan.

En la tabla 2, se muestra el análisis fitoquímico para las diferentes fracciones obtenidas con los disolventes, aumentando el grado de polaridad de los mismos: hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol.

Tabla 2. Detección de los alcaloides y los flavonoides en los extractos de *Parmentiera edulis* D.C. obtenidos con diferentes disolventes

Prueba	Alcaloides															Flavonoides					
	Dragendorff			Mayer			Sonnenschein			Wagner			Marquis			NaOH			Shinoda		
	Fruto	Cort.	Flor	Fruto	Cort.	Flor	Fruto	Cort.	Flor	Fruto	Cort.	Flor	Fruto	Cort.	Flor	Fruto	Cort.	Flor	Fruto	Cort.	Flor
Hexano 1	+++	+	+							+++	+	+	++			++					
2	+	+	+							+	+	+	+			+					
A.E. 1	++++	+	+							++	+	+	+++			+-	+	+			+
2		+	+								+	+	++			+	+	+			+
CHCl ₃ 1			+							++++	+	+				++				+	+
2			+								+	+				+				+	+
Acetona 1		++	+		+			+			+	+				+				+	+
2		++			+											+				+	+
MeOH 1		++	++		+	+					++	+				+++	+			+	+
2		++	++		+	+					++	+				+	+			+	+

++++ =Abundante, +++=Moderado, ++=Bajo, +=Escaso

1: primer periodo de extracción de 24 horas, 2: segundo periodo de 24 horas

Como se observa en la tabla 2, las fracciones de las primeras 24 horas son las que presentan mayor abundancia de metabolitos secundarios.

Las fracciones de acetato de etilo del fruto y las metanólicas de la corteza y la flor son las que presentan alcaloides en mayor proporción; mientras que para los flavonoides las fracciones más ricas son las clorofórmicas y metanólicas de fruto, corteza y flor.

7.3 Evaluación de la actividad farmacológica de los extractos de *Parmentiera edulis* D.C.

7.3.1 Efecto de los extractos en el balance hídrico

La furosemida y los extractos acuoso, de acetato de etilo y metanólico de fruto indujeron un incremento en el flujo urinario, éste sólo fue estadísticamente significativo ($P<0.05$) para el grupo tratado con furosemida y para el grupo tratado con el extracto metanólico de fruto (figura 8).

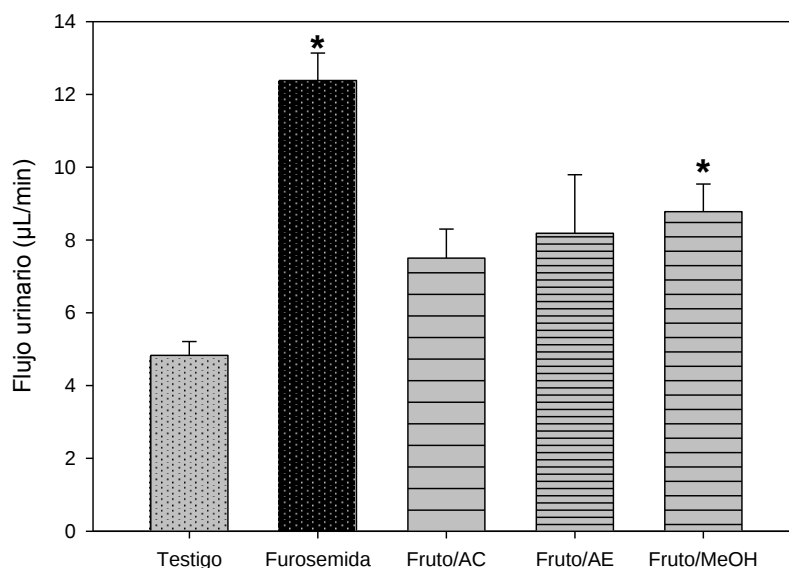


Figura 8. Efecto de los extractos de fruto de *Parmentiera edulis* D.C. sobre el flujo urinario. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P<0.05$ con respecto al grupo testigo

En la figura 9, se muestra el efecto de los extractos de la corteza en el flujo urinario. La furosemida y los extractos acuoso, clorofórmico y metanólico de la corteza indujeron un incremento en éste. El aumento fue estadísticamente significativo ($P<0.05$) para los grupos tratados con furosemida y con el extracto clorofórmico de la corteza.

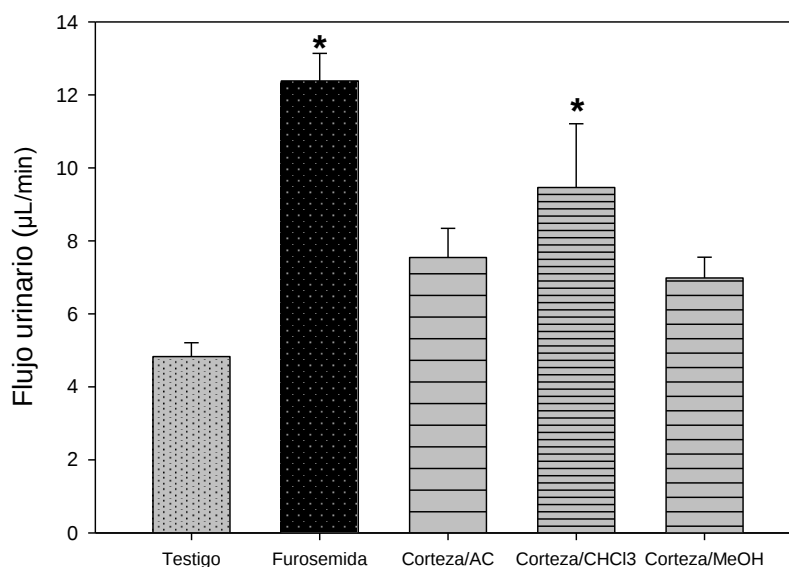


Figura 9. Efecto de los extractos de la corteza de *Parmentiera edulis* D.C. sobre el flujo urinario. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ comparado con el grupo testigo

La furosemida, los extractos acuoso, clorofórmico y metanólico de la flor indujeron un incremento en el flujo urinario. Este efecto fue estadísticamente significativo ($P < 0.05$) únicamente para el grupo tratado con furosemida y para los grupos tratados con los extractos acuoso y clorofórmico de la flor (figura 10).

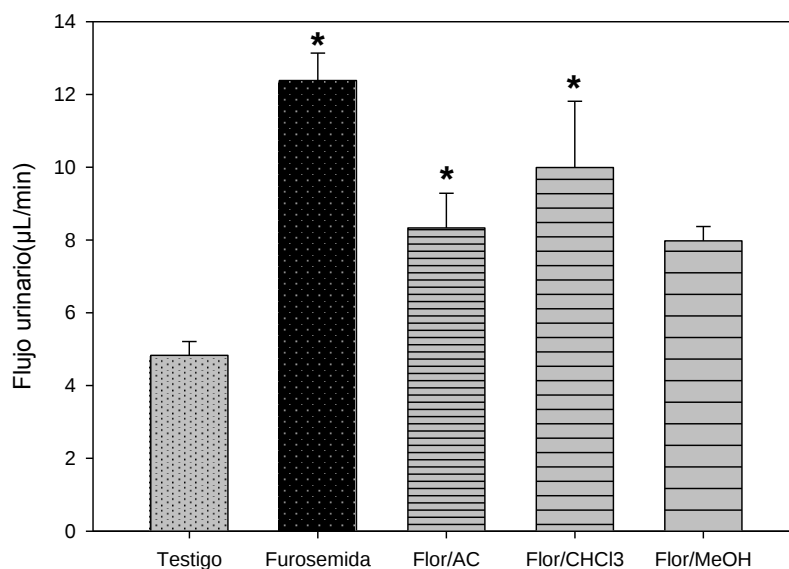


Figura 10. Efecto de los extractos de la flor de *Parmentiera edulis* D.C. sobre el flujo urinario. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ con respecto al grupo testigo

En resumen, se observó que todos los extractos produjeron un incremento en el flujo urinario, únicamente los grupos tratados con furosemida, los tratados con los extractos acuoso de la flor, clorofórmicos de la flor y de la corteza, así como el metanólico de fruto alcanzaron significancia estadística con respecto al grupo testigo ($P < 0.05$), estos resultados permiten sugerir que los metabolitos secundarios en la especie, en particular los flavonoides y alcaloides inducen efecto diurético por incrementar la excreción de agua.

La osmolalidad sérica y la relación Osmolalidad urinaria/Osmolalidad sérica (U/P) no se modificaron en ninguno de los grupos con respecto al grupo testigo (tabla 3).

La furosemida y los extractos de *Parmentiera edulis* D.C. indujeron un incremento en la depuración osmolal, siendo estadísticamente significativo ($P < 0.05$), únicamente para el grupo tratado con furosemida, los grupos tratados con los extractos acuosos del fruto, la corteza y la flor, así como los metanólicos del fruto y la corteza (tabla 3). El incremento observado en ambas depuraciones, permite suponer que hay una excreción de osmolitos efecto esperado con especies diuréticas.

La furosemida y los extractos de *Parmentiera edulis* D.C. indujeron un incremento en la depuración de agua libre, el cual fue estadísticamente significativo ($P<0.05$), para el grupo tratado con furosemida y los grupos tratados con los extractos acuoso, de acetato de etilo y metanólico del fruto (tabla 3).

Tabla 3. Efecto de los extractos de *Parmentiera edulis* D. C. sobre la osmolalidad sérica y los balances hídrico y electrolítico

	Sosm (mmol/kg)	U/P	C _{osm} (μL/min)	C _{H₂O} (μL/min)
Testigo	298.55±2.05	3.36±0.29	16.4±1.371	-11.72±1.04
Furosemida	298.22±3.43	3.48±0.15	42.42±1.87*	-30.40±1.31*
Fruto	292.97±1.31	4.07±0.11	30.83±3.09*	-23.33±2.33*
Corteza	290.14±6.81	3.50±0.11	25.13±4.30*	-17.59±2.96
Flor	302.09±9.80	3.23±0.27	26.08±3.35*	-17.75±2.670
Fruto/AE	291.66±2.05	3.92±0.33	30.07±5.27	-21.88±3.93*
Fruto/MeOH	293.67±1.71	3.64±0.25	31.07±1.41*	-22.29±0.81*
Corteza/ CHCl ₃	290.57±0.96	3.28±0.37	29.07±3.85	-19.61±2.67
Corteza/MeOH	291.15±1.02	3.54±1.02	22.71±4.31*	-15.73±4.63
Flor/ CHCl ₃	295.84±2.43	2.43±0.20	22.94±2.60	-12.95±1.11
Flor/MeOH	288.61±1.58	2.65±0.23	20.94±1.53	-12.96±1.51

Se muestra la media ± el error estándar, * $P<0.05$ con respecto al grupo testigo

7.3.2 Estudio sobre el efecto electrolítico

Las concentraciones séricas de sodio y potasio no se modificaron a las condiciones experimentales de este estudio (tabla 4) con respecto al grupo testigo, estos resultados nos muestran que el efecto de los extractos es a nivel renal.

Las excreciones urinarias (EU) de sodio se vieron aumentadas en todos los grupos tratados con los extractos de *Parmentiera edulis* D.C., sin embargo, sólo la furosemida y

los grupos tratados con los extractos metanólicos del fruto, la corteza y la flor, los clorofórmicos de corteza y flor produjeron un aumento estadísticamente significativo ($P<0.05$), (tabla 4).

Las excreciones urinarias de potasio en los grupos tratados con los extractos de *Parmentiera edulis* D.C., se vieron aumentadas, sin embargo, sólo el grupo tratado con el extracto de acetato de etilo produjo un aumento estadísticamente significativo ($P<0.05$), (tabla 4).

Tabla 4. Efecto de los extractos de *Parmentiera edulis* D. C. sobre las concentraciones séricas y excreciones urinarias de sodio y potasio

	Sodio sérico (mEq/mL)	Potasio sérico (mEq/mL)	EU sodio (mEq/min)	EU potasio (mEq/min)
Testigo	140.31±7.24	6.6±0.58	0.73±0.28	0.86±0.21
Furosemida	141.17±5.10	7.03±0.56	3.66±0.82*	0.99±0.26
Fruto	136.73±5.43	6.83±0.70	1.40±0.27	0.23±0.034
Corteza	131.19±10.54	6.67±0.49	1.58±0.65	0.14±0.032
Flor	135.22±8.14	5.33±0.49	2.90±0.35	0.23±0.03
Fruto/AE	150.48±9.46	7.51±0.76	3.25±0.91	1.95±0.22*
Fruto/MeOH	135.14±8.06	7.16±0.90	3.68±1.02*	1.48±0.31
Corteza/CHCl ₃	118.08±0.74	5.900.26	208.51±31.15*	0.96±0.18
Corteza/MeOH	153.19±1.75	6.16±0.24	155.25±12.30*	0.66±0.13
Flor/ CHCl ₃	154.37±1.41	5.77±0.16	211.89±35.17*	0.76±0.04
Flor/MeOH	153.78±1.96	6.29±0.64	166.42±7.99*	0.603±0.048

Se muestra la media ± el error estándar, * $P<0.05$ comparado con el grupo testigo

La furosemida y los extractos acuoso, de acetato de etilo y metanol del fruto indujeron un incremento en la depuración de sodio, pero sólo alcanzaron significancia estadística ($P<0.05$) los grupos tratados con la furosemida y el extracto metanólico (figura 11).

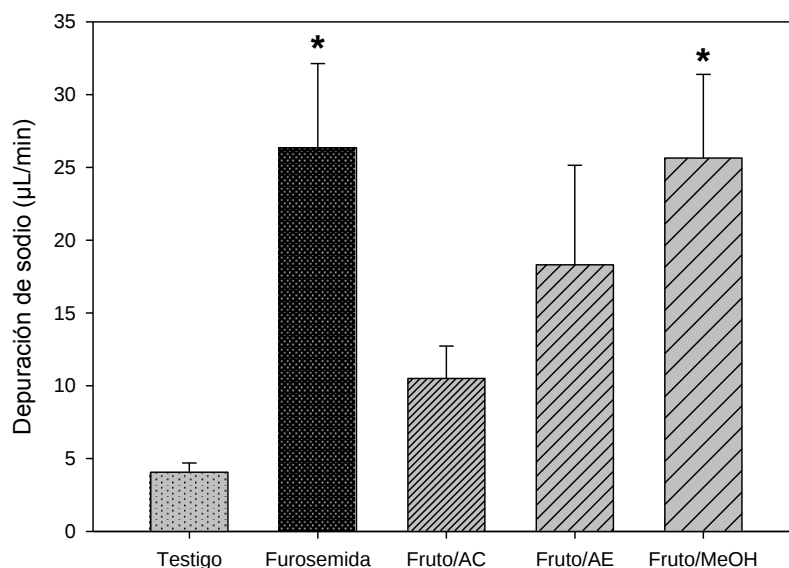


Figura 11. Efecto de los extractos de fruto de *Parmentiera edulis* D.C. sobre la depuración de sodio. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P<0.05$ comparado con el grupo testigo

En la figura 12, se muestran los resultados obtenidos con los diferentes extractos de la corteza, la furosemida y los extractos acuoso, clorofórmico y metanólico de la corteza indujeron un incremento en la depuración de sodio. Este efecto fue estadísticamente significativo ($P<0.05$) para los grupos tratados con la furosemida y el extracto clorofórmico.

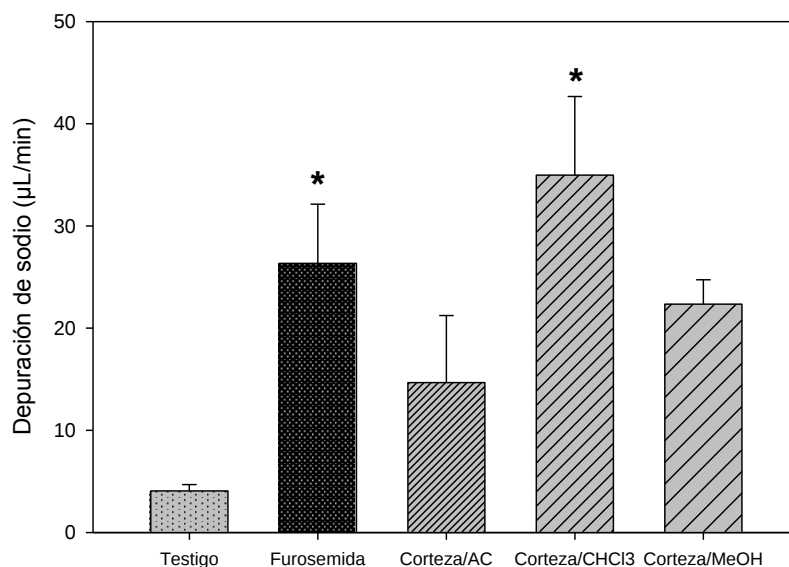


Figura 12. Efecto de los extractos de la corteza de *Parmentiera edulis* D.C. sobre la depuración de sodio. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ con respecto al grupo testigo

La depuración de sodio en los grupos tratados con la furosemida y con los extractos acuoso, clorofórmico y metanólico de la flor se incrementó, únicamente los grupos tratados con la furosemida y con los extractos acuoso y clorofórmico mostraron un aumento estadísticamente significativo ($P < 0.05$), (figura 13).

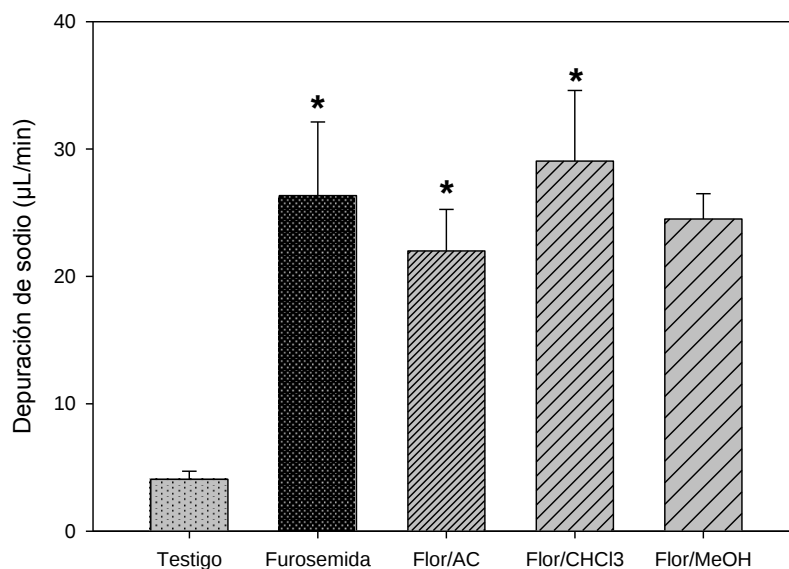


Figura 13. Efecto de los extractos de flor de *Parmentiera edulis* D.C. sobre la depuración de sodio. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ comparado con el grupo testigo

En lo referente a la depuración de potasio, la furosemida y los extractos de acetato de etilo y metanol de la flor indujeron un incremento que fue estadísticamente significativo ($P < 0.05$), únicamente para los grupos tratados con furosemida y con los extractos de acetato de etilo y metanólico (figura 14).

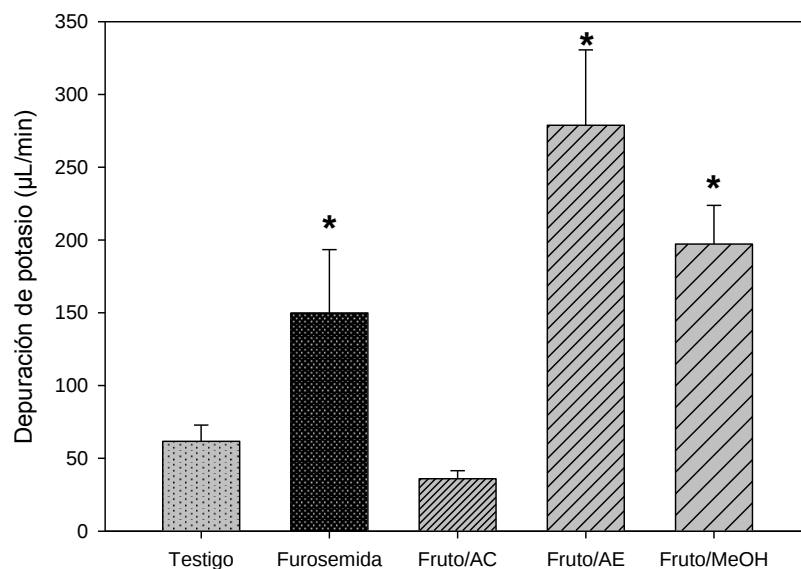


Figura 14. Efecto de los extractos del fruto *Parmentiera edulis* D.C. sobre la depuración de potasio. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ con respecto al grupo testigo

Para la corteza, los extractos clorofórmico y metanólico, así como la furosemida indujeron un incremento en la depuración de potasio, que resultó estadísticamente significativo ($P < 0.05$) únicamente para el grupo tratado con la furosemida y el grupo tratado con el extracto clorofórmico (figura 15).

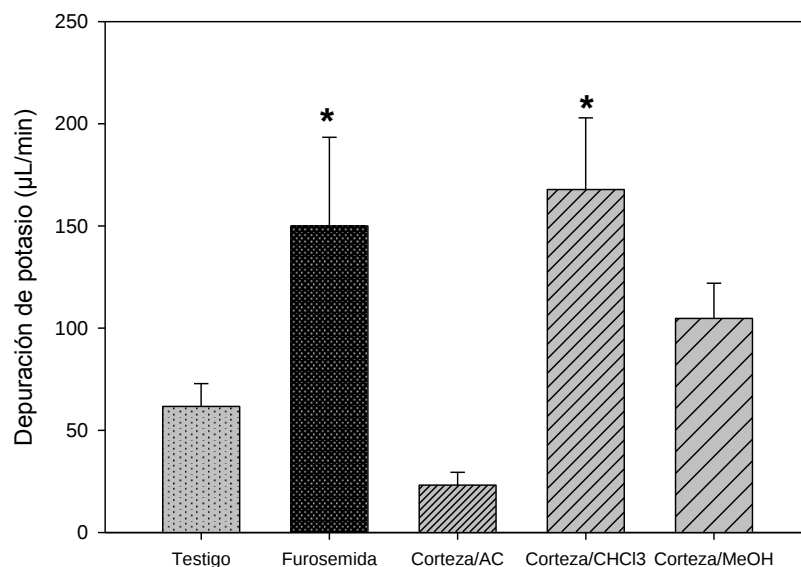


Figura 15. Efecto de los extractos de la corteza de *Parmentiera edulis* D.C. sobre la depuración de potasio. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ en comparación con el grupo testigo

La furosemida y los extractos clorofórmico y metanólico de la flor indujeron un incremento en la depuración de potasio, que fue estadísticamente significativo ($P < 0.05$), para el grupo tratado con furosemida (figura 16).

El incremento en la excreción de electrolitos aunado al de la excreción de agua, nos indica que efectivamente la especie produce un efecto diurético.

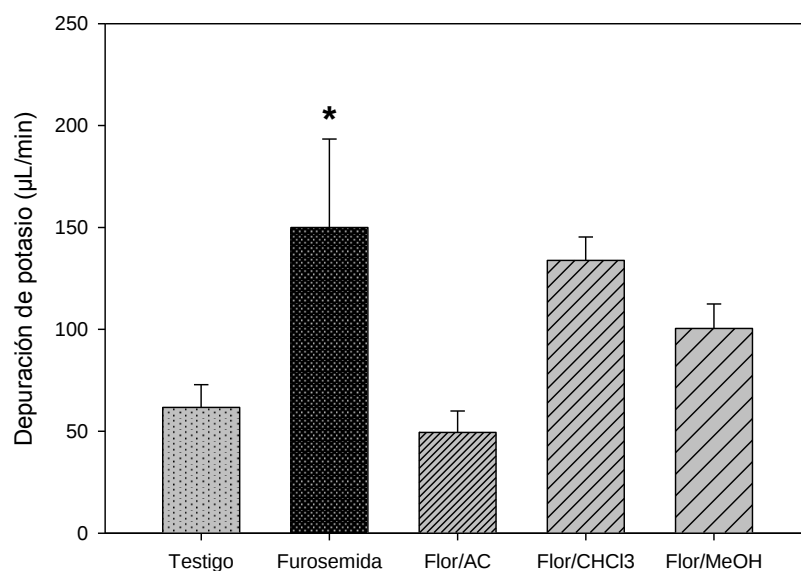


Figura 16. Efecto de los extractos de la flor de *Parmentiera edulis* D.C. sobre la depuración de potasio. Cada barra representa la media $\pm$ el error estándar, * $P < 0.05$ respecto al grupo testigo

7.3.3 Velocidad de filtración glomerular

No se modificó la velocidad de filtración glomerular (tabla 5). Esto es importante porque los resultados obtenidos nos permiten suponer que el efecto inducido por los extractos fue a nivel de los túbulos renales.

La excreción fraccional (EF) de sodio en los grupos tratados con la furosemida y los extractos clorofórmico y metanólico de la corteza y metanólico de la flor, se incrementó de manera significativa con respecto al grupo testigo ($P < 0.05$). En la excreción fraccional de potasio hubo una disminución estadísticamente significativa para el grupo tratado con el extracto acuoso de fruto ($P < 0.05$) en comparación al grupo testigo, tabla 5. No se encontraron diferencias en los grupos experimentales restantes.

Tabla 5. Efecto de los extractos de *Parmentiera edulis* D. C. en la velocidad de filtración glomerular y las excreciones fraccionales de sodio y potasio

	C _{creatinina} (mL/min)	EF sodio	EF potasio
Vehículo	0.63±0.06	0.75±0.13	10.41±2.01
Furosemida	0.63±0.07	4.32±0.79*	23.50±6.41
Fruto	0.70±0.09	1.46±0.26	5.14±0.54*
Corteza	0.61±0.22	4.12±1.84	6.53±2.45
Flor	0.80±0.29	3.77±0.87	8.60±2.59
Fruto/AE	0.84±0.14	2.80±0.72	42.67±14.73
Fruto/MeOH	0.83±0.11	3.89±1.48	25.51±4.53
Corteza/CHCl ₃	0.54±0.06	8.43±1.41*	31.51±5.78
Corteza/MeOH	0.40±0.07	6.87±0.77*	29.54±6.12
Flor/CHCl ₃	0.66±0.15	4.33±1.00	18.74±4.6
Flor/MeOH	0.69±0.11	4.68±1.08*	16.99±3.62

Se muestra la media±el error estándar, * $P<0.05$ con respecto al grupo testigo

7.4 Determinación de la DL₅₀

No se observó ningún signo de toxicidad en los ratones durante el período de monitoreo (6 h), ni muertes a ninguna de las dosis administradas, durante los 14 días posteriores a la administración. La DL₅₀ de los extractos acuosos de la corteza, la flor y el fruto fue superior a los 20g/kg.

8. DISCUSIÓN

El uso de fuentes vegetales es tan remoto como arraigado, está mezclado con ideas mágicas (Albuquerque et al, 2007) y para fortuna del avance científico en nuestro país se ha incrementado la cantidad de investigaciones que dan sustento a usos farmacológicos como las publicaciones de Meléndez et al, 2004; Narváez et al, 2008; que contribuyen a la eliminación del misticismo que resta seriedad a las aportaciones que la herbolaria pueda tener.

La importancia de realizar investigaciones acerca de plantas medicinales radica en el punto que es de vital importancia brindar sustento científico a las especies vegetales que se utilizan y hasta comercializan como remedio o concomitantes de tratamientos farmacológicos (Upadhyay et al, 2010; Afzal et al, 2004). A medida que aumentan estas investigaciones se revalora la utilidad de una especie que quizá es usada en otra parte del mundo para un fin completamente distinto (Shakil et al, 2007).

Parmentiera edulis D.C. es una especie usada como diurética en preparaciones como licuados siendo consumida más comúnmente en forma de decocción (Argueta et al, 1994), lo cual corresponde con los datos obtenidos en el estudio etnobotánico, que se realizó con el fin de investigar el uso de la especie de manera tradicional, dato importante para cualquier especie vegetal como lo sugiere el trabajo de Upadhyay et al, 2010 con una serie de preguntas que permiten recabar la información necesaria.

Es grande la cantidad de estudios científicos encaminados a determinar las características de los metabolitos responsables del efecto que empíricamente se le atribuye a cada una de las plantas. Así, por ejemplo, existen registros del estudio diurético de: *Spergularia purpurea* (Jouad et al, 2001), *Allium sativum* (Pantoja et al, 2000) *A. comosus*, *C. rotundus*, *C. papaya*, *I. cilíndrica*, *A. carambola* (Sripanidkulchai et al, 2001), entre

otras. Es de notar que de todas estas plantas se tienen conocimientos de naturaleza empírico acerca de su efecto diurético. El presente estudio se centró únicamente en la evaluación del efecto diurético de *Parmentiera edulis* D.C. y de las diferentes fracciones obtenidas de corteza, fruto y flor.

De acuerdo a Abdala y colaboradores (2008), cada órgano de las especies vegetales son de interés especial, ya que en éstos se pueden encontrar numerosas sustancias químicas con probable actividad farmacológica, por lo cual se decidió en este estudio emplear la corteza, flor y fruto para no descartar de inicio alguna parte de la planta que nos brindara información valiosa sobre ésta.

Aunque de inicio el interés ya estaba dirigido hacia alcaloides y flavonoides ya que en plantas con acción diurética comprobada se han aislado estos metabolitos como responsables de la actividad (Arafat et al, 2008; Nedi et al, 2004; Benjumea et al, 2005; Abdala et al, 2008).

Se procedió a trabajar con decocciones acuosas de las parte de cuajilote como lo refiere la población y así comprobar si el uso popular realmente tenía los resultados conferidos y no se debían a un efecto placebo, con los cuidados necesarios para no elevar demasiado la temperatura y afectar algún otro metabolito termolábil para proceder a las evaluaciones farmacológicas.

Los disolventes orgánicos que se utilizaron fueron: cloroformo, hexano, acetato de etilo, acetona y metanol. En esto se siguió las recomendaciones de Zou y colaboradores, (2005), lo anterior no es de extrañar, debido a que al trabajar con disolventes de diferente polaridad, los diferentes metabolitos se repartirán dependiendo su naturaleza no polar-polar (Meckes et al, 2004), con lo que se esperaba que los metabolitos presentes dentro de cada

extracto tengan la misma naturaleza polar que el disolvente. De esta forma se obtuvieron extractos con cloroformo, acetato de etilo y metanol, donde se detectaron químicamente alcaloides y flavonoides.

Para llevar a cabo el estudio, era necesario un control positivo ya que de manera natural nuestro cuerpo mantiene regulada la salida de líquidos con base en lo que hemos ingerido durante la dieta (Frindt et al, 2001), en este caso, se utilizó la furosemida por ser un fármaco de referencia en cuanto a diuréticos y que la mayoría de los autores han utilizado en sus estudios para evaluar esta actividad (Meléndez et al, 2004; Meléndez et al, 2006), la furosemida a la dosis utilizada en el estudio (4mg/kg) no afecta la función glomerular (Meléndez et al, 1991).

Después de realizado el ensayo biológico, los grupos tratados con extractos acuosos de *Parmentiera edulis* D.C. no mostraron un aumento superior al grupo con furosemida en relación al flujo urinario, pero si respecto al grupo testigo, el grupo flor fue el único que tuvo un aumento estadísticamente significativo.

El aumento en el volumen urinario, en las depuraciones osmolal y de agua libre inducidos por *Parmentiera edulis* D.C. permite sugerir que la especie produce diuresis, efectos encontrado en otras especies vegetales (Abdala et al, 2008; Phillipson, 2007).

En este estudio el efecto inducido por los diferentes extractos aunque fueron estadísticamente significativos fueron menores a los inducidos por el testigo positivo. Es importante resaltar que la dosis utilizada para los extractos clorofórmicos, de acetato de etilo y metanol fue 50% menor en comparación con la dosis utilizada de los extractos acuosos, lo que sugiere que los metabolitos en estos extractos son más activos o se encuentran en mayor concentración.

La depuración de sodio y el flujo urinario se incrementaron en los grupos tratados con los diferentes extractos, resultados similares han sido obtenidos por Arafat y colaboradores (2008), quienes estudiaron el efecto diurético e hipouricémico de los extractos acuoso y metanólico de *Orthosiphon stamineus*, los autores resaltan el incremento en la excreción de potasio inducido por los extractos, a diferencia de estos resultados, los extractos de *Parmentiera edulis* D.C., no indujeron este efecto, lo que permite resaltar como ventaja de la especie evaluada al no producir pérdida de potasio, ya que son pocas las especies que no inducen un incremento en la excreción de potasio como por ejemplo *Bidens odorata* (Meléndez et al, 2004) y pueden usarse sin necesidad de suministro de potasio.

Entre los metabolitos encontrados dentro del extracto acuoso están los alcaloides, flavonoides y saponinas, metabolitos que de acuerdo a datos presentes en la literatura inducen un efecto diurético, las saponinas cuentan con referencias en las cuales se hace notar su acción a nivel del glomérulo (Kuklinski, 2003), por lo tanto aumentan la velocidad de filtración glomerular, lo cual no ocurrió en este estudio. Es por esto que no se considero este tipo de metabolitos y se puso especial atención en los alcaloides y los flavonoides como posibles responsables del efecto diurético. Gran cantidad de reportes indican la posibilidad de que los flavonoides sean los responsables del efecto diurético en diversas plantas medicinales (Galato et al, 2002; Meléndez et al, 2004; Maghrani et al, 2005; Jouad et al, 2001), sin embargo, ninguno menciona que tipo y mucho menos el nombre del metabolito. En este estudio se realizaron pruebas fitoquímicas que determinan la presencia de flavonoides del tipo flavonas, flavononas, flavonoles, flavononoles y xantonas. Tampoco se debe dejar a un lado la presencia de los alcaloides dentro del extracto.

En ninguno de los casos la velocidad de filtración glomerular se vio alterada indicando que no existió una modificación a nivel glomerular, en el experimento sólo se emplearon ratas hembras, ya que la medición del aclaramiento de creatinina es un buen

trazador de la función renal (Zhonghua et al, 2004) porque en las hembras sólo se filtra y no se secretada a diferencia de lo que sucede en las ratas macho, en los que se tiene un valor de depuración de creatinina aumentado por la participación de la secreción tubular renal (Frindt et al, 2001; Reyes et al, 1998).

9. CONCLUSIONES

El flujo urinario, las depuraciones de sodio, osmolal y de agua libre se incrementaron en todos los grupos con respecto al grupo testigo. La flor indujo un efecto diurético mayor al obtenido en los grupos tratados con los extractos de la corteza y del fruto, pero menor al obtenido con furosemida.

Las concentraciones séricas de sodio y potasio, así como, la velocidad de filtración glomerular no se modificaron en ninguno de los grupos.

Las fracciones de acetato de etilo y metanol del fruto, las clorofórmicas y metanólicas de la corteza y la flor fueron las más ricas en alcaloides y flavonoides.

En las evaluaciones farmacológicas de las fracciones de acetato de etilo y metanol de fruto, las clorofórmicas y metanólicas de la corteza y la flor se observaron incrementos en el flujo urinario y las depuraciones de sodio respecto al grupo testigo al 50% de las dosis utilizadas de los extractos acuosos.

La dosis letal del fruto, la corteza y la flor de *Parmentiera edulis* D.C. fue superior a los 20 g/kg de p.c.

Parmentiera edulis D.C. los hallazgos permitieron demostrar la actividad diurética, lo que corroboró el uso asignado por el conocimiento empírico obtenido en el estudio etnobotánico.

10. REFERENCIAS

- Abdala S., Martín-Herrera D., Benjumea D., Pérez-Paz P. (2008). Diuretic activity of *Smilax canariensis*, an endemic Canary Island species. *Journal of Ethnopharmacology* 119: 12–16.
- Afzal M., Khan N.A., Ghufraan A., Iqbal A., Inamuddin M. (2004) Diuretic and nephroprotective effect of Jawarish Zarooni Sada—a polyherbal unani formulation. *Journal of Ethnopharmacology* 91: 219–223.
- Arafat O.M., Tham S.Y., Sadikun A., Zhari I., Haughton P.J., Asmawi M.Z. (2008). Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 118: 354–360.
- Argueta V. A., Cano, A.L., Rodarte, M.E. (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Tomo I. Pp. 545-547.
- Albuquerque U., Monteiro J., Alves M., Cavalcanti E. (2007). Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 110: 76-91.
- Aronson P.S. (1998). El riñón. En: Fisiopatología Principios biológicos de la enfermedad. Smith L. H. (ed) Segunda edición. Médica Panamericana S. A., Buenos Aires, Argentina. Pp. 602-643.
- Asakawa Y. (2003). Global phytochemistry: research in Japan. *Phytochemistry* 64: 909–912.
- Cáceres A., Menéndez H., Méndez E., Cohobón E., Samayoa B. E., Jauregui E., Peralta E., Carrillo G. (1995). Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 48: 85-88.

- Benjumea D., Abdala S., Hernandez-Luis F., Pérez-Paz P., Martin-Herrera D. (2005). Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic canary species. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 205–209.
- Costanzo M. R., Saltzberg M., O' Sullivan J., Sobotka P. (2005). Early Ultrafiltration in Patients With Decompensated Heart Failure and Diuretic Resistance. *Journal of the American College of Cardiology*, 11: 2047–2051.
- Domínguez X. A. (1973). Métodos de investigación fitoquímica. 1 a. edición. Limusa S.A., México, D.F. Pp. 81-89, 211-228.
- Fernie A. R. (2007). The future of metabolic phytochemistry: Larger numbers of metabolites, higher resolution, greater understanding. *Phytochemistry*, 68: 2861–2880.
- Frindt G., Masilamani S., Knepper M. A., Lawrence G. P., (2001). Activation of epithelial Na channels during short-term Na deprivation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 280: 112-118.
- Galati E. M., Tripodo M. M., Trovato A., Miceli N., Monforte M. T. (2002). Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 17-21.
- Ives H. E. (2005). Diuréticos. En: *Farmacología básica y clínica*. Katzung. B.G. (ed.). Novena edición, Manual moderno S. A. de C. V., México. Pp. 241-256.
- Jackson E. K., Limbird L.E., Molinoff P.B., Ruddon R.W., Goodman G.A. (1996). Diuretics. En: *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. Hardman J. G. (ed.) 9 a. Edition Ed. McGraw-Hill., New York. Pp. 685-712.

- Jouad H., Lacaille-Dubois M. A., Lyoussi B., Eddouks M. (2001). Effects of the flavonoids extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on arterial blood pressure and renal function in normal and hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 159-163.
- Kaplan L. A. (1990). Osmolaridad. En: *Química Clínica Métodos*. Naito, H. K. Ed. Médica Panamericana S. A., Buenos Aires, Argentina, Pp. 36-39.
- Korsun W. J. (1990). Electrolitos. En: *Química Clínica Métodos*. Naito, H. K. (ed) Médica Panamericana S. A., Buenos Aires, Argentina, Pp.103-110.
- Kuklinski C., (2003). *Farmacognosia*. Primera edición, Editorial Omega. Barcelona, España. Pp. 108, 146-153, 169, 183.
- Lant A. F. (1981). Modern diuretics and the kidney. *Journal Clinical Pathology*, 37: 1267-1275.
- Macías F. A., Galindo J. L. G., Galindo J.C.G. (2007). Evolution and current status of ecological phytochemistry. *Phytochemistry*, 68: 2917–2936.
- Maghrani M., Zeggwagh N.-A., Haloui M., Eddouks M. (2005). Acute diuretic effect of aqueous extract of *Retama raetam* in normal rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 99:31-35.
- Meckes W., David-Rivera A. D., Nava-Aguilar V., Jiménez A. (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine*, 11: 446-451.
- Meléndez C. M. E., Reyes J. L., Meléndez M. A. (1991). Effects of furosemide on the renal functions of the unanesthetized newborn rat. *Developmental Pharmacology and Therapeutics*, 17: 210-219.

- Meléndez C. M. E., Berdeja B., Miranda G. (2004). Diuretic effect of the aqueous extract of *Bidens odorata* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology* 95: 363–366.
- Meléndez C. M. E., Cooley O., Ramírez M. (2006). Evaluation of diuretic activity of six plants used for the treatment of urinary diseases in México. *Recent progress in medicinal plants search for natural drugs*, 13 (16): 323-331.
- Meneton P., Ichikawa I., Inagami T., Schnermann J. (2000). Renal physiology of the mouse. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 278: 339-351.
- Narváez-Mastache., Novillo F., Delgado G. (2008). Antioxidant aryl-prenylcoumarin, flavan-3-ols and flavonoids from *Eysenhardtia subcoriacea*. *Phytochemistry*, 69: 451–456.
- Nedi T., Mekonnen N., Urga K. (2004). Diuretic effect of the crude extracts of *Carissa edulis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 95: 57–61.
- Pantoja C. V., Martín N. T., Norris B. C., Contreras C. M. (2000). Purification and bioassays of a diuretic and natriuretic fraction from garlic (*Allium sativum*). *Journal of Ethnopharmacology*, 70: 35-40.
- Phillipson, J.D. (2007). *Phytochemistry and pharmacognosy*. *Phytochemistry*, 68: 2960-2972.
- Pérez G. R., Pérez G. C., Zavala S. M., Pérez G. S. (1998). Actividad hipoglucemiante de *Bouvardia terniflora*, *Brickellia veronicaefolia* y *Parmentiera edulis*. *Salud Pública de México*, 40 (4): 354-358.
- Pérez G. R., Pérez G. C., Zavala S. M., Pérez G. S., Hernández H., Lagunes F. (2000). Hypoglycemic effects of lactucin-8-0-methylacrylate of *Parmentiera edulis* fruit. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 391-397.

- Pesce, A. J. (1990). Creatinina. En: Química Clínica Métodos. Naito, H. K. (Ed) Primera edición, Médica Panamericana S. A., Buenos Aires, Argentina, Pp. 1150-1152.
- Quirino B. F., Candido E. S., Campos P. F., Franco O. L., Krüger R. H. (2010). Proteomic approaches to study plant–pathogen interactions. *Phytochemistry*, 71: 351–362.
- Reyes J.L., Meléndez E., alegría A., Jaramillo J. F. (1998). Influence of Sex Differences on the Renal Secretion of Organic Anions. *Endocrinology*, 139: 1581-1587.
- Rzedowski J., Calderón G. (1993). Familia Bignoniaceae. En: Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 22. Instituto de Ecología Xalapa, Veracruz. Pp. 27-30.
- Robins R. J., Gibbons S., Marston A. (2007). The fiftieth anniversary meeting of the Phytochemical Society of Europe: Churchill College, Cambridge, 11–14 April 2007 Highlights in the Evolution of Phytochemistry. *Phytochemistry*, 68: 2699–2704.
- Shakil N.A., Pankaj, Kumar J., Pandey R.K., Saxena D.B. (2008). Nematicidal prenylated flavanones from *Phyllanthus niruri*. *Phytochemistry*, 69: 759–764.
- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Sripanidkulchai B., Wongpanich V., Laupattarakasem P., Suwansaksri J., Jirakulsomchock D. (2001). Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 75:185-190.

- Upadhyay B., Parveen, Dhaker A. K., Kumar A. (2010). Ethnomedicinal and ethnopharmaco-statistical studies of Eastern Rajasthan, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 129: 64-86.
- Wink M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64: 1-2.
- Wright C. I., Van-Buren L., Kroner C. I., Koning M. M. G. (2007). Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. *Journal of Ethnopharmacology*, 114: 1-31.
- Zillich, A. J., Garg J., Basu S., Bakris G. L., Carter B.L. (2006). Thiazide diuretics, potassium, and the development of diabetes. *Hipertension*, 48: 219-224.
- Zhonghua Q., Whitt I., Mehta A., Jin J., Zhao M., Harris R.C., Fogo A.B., Breyer M.D. (2004). Serial determination of glomerular filtration rate in conscious mice using FITC-inulin clearance. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 286: 590–596.
- Zou J-H., Yang J-S., Dong Y-S., Zhou L., Lin G. (2005). Flavone C-glycosides from flowers of *Trollius ledebouri*. *Phytochemistry*, 66: 1121-1125.