

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD



ESTUDIO ETNOBOTÁNICO DE  
*Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.  
EN UNA COMUNIDAD DEL MUNICIPIO DE  
ZEMPOALA, HIDALGO Y EVALUACIÓN DEL  
EFECTO DIURÉTICO EN RATA

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN FARMACIA  
PRESENTE A  
MARGARITO SALAZAR RODRÍGUEZ

ASESORES: DRA. MARÍA ESTELA MELÉNDEZ CAMARGO.  
DR. RICARDO PÉREZ-PASTEN BORJA



**Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo  
Instituto de Ciencias de la Salud  
Área Académica de Farmacia**

Oficio No. 19/2007

**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

M. en C. JULIO CÉSAR LEINES MEDECIGO  
Director de Control Escolar de la UAEH  
P R E S E N T E:

Por este conducto, le informo que el Jurado asignado al Pasante de la Licenciatura en Farmacia **Margarito Salazar Rodríguez**, con número de cuenta 095236, quien presenta el trabajo de tesis denominado **“Estudio Etnobotánico de *Eysenhardtia polystachya (Ort.) Sarg.* en una Comunidad del Municipio de Zempoala, Hidalgo y Evaluación del Efecto Diurético en Rata.”**, después de revisar el documento preliminar, ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

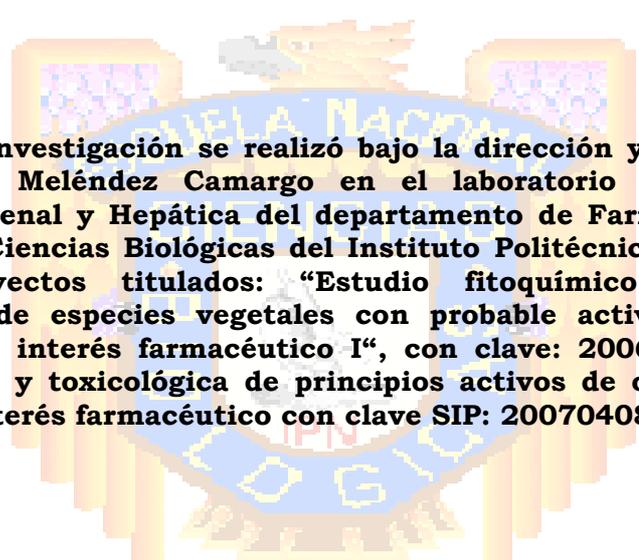
| Nombre                             | Firma |
|------------------------------------|-------|
| M. en C. Ana Luisa Robles Piedras  |       |
| Dr. Ricardo Pérez Pasten Borja     |       |
| Dr. José Antonio Morales González  |       |
| M. en C. Abelardo Camacho Luís     |       |
| Dr. Alfredo Téllez Valencia        |       |
| M. en C. Georgina Almaguer Vargas  |       |
| MVZ José Ramón Montejano Rodríguez |       |

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"AMOR, ORDEN y PROGRESO"  
PACHUCA DE SOTO, HGO., A 28 DE JUNIO DEL 2007

DR. HUMBERTO LAVERAS GODOY  
DIRECTOR DE ICSA

MSP JOSEFINA REYNOSO VAZQUEZ  
COORDINADORA DEL ÁREA  
ACADÉMICA DE FARMACIA.



**La presente investigación se realizó bajo la dirección y asesoría de la Dra. María Estela Meléndez Camargo en el laboratorio de Farmacología y Toxicología Renal y Hepática del departamento de Farmacia de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Dentro de los proyectos titulados: “Estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico de especies vegetales con probable actividad terapéutica y sustancias de interés farmacéutico I”, con clave: 20060465 y Evaluación farmacológica y toxicológica de principios activos de origen vegetal o por síntesis de interés farmacéutico con clave SIP: 20070408**



|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>RESUMEN</b>  |               |
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>  | <b>1</b>      |
| 1.1. Antecedentes   | 2             |
| 1.2. Medicina Tradicional   | 3             |
| 1.3. Herbolaria medicinal en México   | 4             |
| 1.4. <i>Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg</i>  | 6             |
| 1.5. Diuréticos   | 8             |
| 1.5.1 Diuréticos de asa   | 9             |
| 1.6. Función renal  | 10            |
| 1.7. Osmolalidad  | 11            |
| 1.6. Electrolitos   | 12            |
| <b>II. JUSTIFICACIÓN</b>  | <b>14</b>     |
| <b>III. HIPÓTESIS</b>   | <b>15</b>     |
| <b>IV. OBJETIVOS</b>  | <b>16</b>     |
| <b>V. MATERIAL Y EQUIPO</b>   | <b>17</b>     |
| <b>VI. METODOLOGÍA</b>  | <b>19</b>     |
| 6.1. Obtención del material vegetal   | 19            |
| 6.2. Estudio etnobotánico   | 19            |
| 6.3. Preparación del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg</i>   | 22            |
| 6.4. Análisis fitoquímico preliminar  | 22            |
| 6.5. Evaluación de la actividad diurética   | 25            |
| 6.6. Análisis estadístico   | 30            |
| <b>VII. RESULTADOS</b>  | <b>31</b>     |
| 7.1. Estudio etnobotánico   | 31            |
| 7.2. Análisis fitoquímico preliminar  | 31            |
| 7.3. Cuantificación de electrolitos en el extracto acuoso y en el liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya (Ort.) Sarg</i> .                          | 37            |
| 7.4. Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg</i> sobre el balance hídrico en la rata                    | 39            |
| 7.5. Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg</i> sobre el balance electrolítico en la rata              | 42            |
| 7.6. Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg</i> sobre la velocidad de filtración glomerular en la rata | 49            |
| <b>VIII. DISCUSIÓN</b>  | <b>51</b>     |
| <b>IX. CONCLUSIONES</b>   | <b>54</b>     |
| <b>X. BIBLIOGRAFÍA</b>  | <b>55</b>     |

**ÍNDICE DE FIGURAS**

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>Fig 1.-</b> Palo dulce ( <i>Eysenhardtia polystachya</i> Ort. Sarg.)   | <b>7</b>      |
| <b>Fig 2.-</b> Ubicación geográfica de la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, perteneciente al municipio de Zempoala, Hidalgo                                    | <b>20</b>     |
| <b>Fig 3.-</b> Cuestionario para la obtención de información etnobotánica sobre <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. “palo dulce”                       | <b>21</b>     |
| <b>Fig 4.-</b> Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg                             | <b>23</b>     |
| <b>Fig 5.-</b> Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg                             | <b>24</b>     |
| <b>Fig 6.-</b> Evaluación de la actividad diurética   | <b>26</b>     |
| <b>Fig 7.-</b> Muestra poblacional entrevistada en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, sobre <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg.                     | <b>29</b>     |
| <b>Fig 8.-</b> Padecimientos para los que se emplea <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan.                        | <b>30</b>     |
| <b>Fig 9.-</b> Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg sobre el volumen urinario en la rata.                | <b>37</b>     |
| <b>Fig 10.-</b> Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. sobre la excreción urinaria de sodio en la rata.   | <b>41</b>     |
| <b>Fig 11.-</b> Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. sobre la excreción urinaria de potasio en la rata. | <b>42</b>     |
| <b>Fig 12.-</b> Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (ort.) Sarg. sobre la depuración de potasio en la rata.         | <b>45</b>     |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   | Página |
|---|--------|
| <b>Tabla 1.-</b> Información etnobotánica de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, Zempoala, Hidalgo   | 32     |
| <b>Tabla 2.-</b> Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg   | 33     |
| <b>Tabla 3.-</b> Contenido de electrolitos en el extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg   | 34     |
| <b>Tabla 4.-</b> Efecto del extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg sobre el volumen urinario, la depuración osmolal y de agua libre en la rata                  | 36     |
| <b>Tabla 5.-</b> Efecto del extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia Polystachya</i> (ort.) Sarg sobre la osmolalidad sérica, osmolalidad urinaria y relación U/P en la rata                  | 38     |
| <b>Tabla 6.-</b> Efecto del extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. sobre las concentraciones séricas y las excreciones urinarias de sodio y potasio en la rata | 40     |
| <b>Tabla 7.-</b> Efecto del extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. sobre las depuraciones sodio y potasio en la rata   | 44     |
| <b>Tabla 8.-</b> Efecto del extracto acuoso y liofilizado de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. sobre las excreciones fraccionales de sodio y potasio en la rata                            | 47     |



# Resumen



## RESUMEN

**Antecedentes:** las plantas medicinales han tenido una gran trascendencia por los múltiples beneficios que han traído a los pueblos desde épocas muy antiguas. México, es un país subdesarrollado en el cual un gran número de habitantes depende de las plantas medicinales para su atención primaria de la salud; sin embargo, mucho del conocimiento que se tiene de las propiedades curativas de las plantas medicinales se ha ido perdiendo, aunado a que la mayoría de las especies autóctonas utilizadas en la medicina tradicional cuentan aún con muy poca información generada a partir de métodos experimentales que respalden su uso desde una perspectiva biomédica, careciendo en este sentido de referentes sobre su efectividad, toxicidad y caracterización de metabolitos, entre otros. De acuerdo a lo anterior resulta especialmente importante la recuperación de información etnobotánica y corroborar científicamente los efectos farmacológicos atribuidos a una planta medicinal.

**Objetivos:** realizar un estudio etnobotánico sobre *Eysenhardtia polystachya* Ort. Sarg. En la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, Zempoala, Hidalgo. Corroborar el efecto diurético de la planta palo dulce en rata, realizar un estudio fitoquímico preliminar del extracto acuoso y del liofilizado *Eysenhardtia polystachya* Ort .Sarg.

**Metodología:** se realizó un estudio etnobotánico en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan perteneciente al municipio de Zempoala, Hidalgo sobre *Eysenhardtia polystachya* Ort .Sarg. En el cual se recopiló información de la planta a través de la aplicación de cuestionarios a adultos de esta comunidad acerca de los nombres, usos, vía de administración, cantidad empleada, frecuencia de uso etc.

La planta fue colectada y se identificó, se elaboró el extracto acuoso y se obtuvo el liofilizado, posteriormente se realizó el estudio fitoquímico preliminar.

Para la evaluación del efecto diurético se utilizaron ratas hembras Wistar de  $200 \pm 20$ g de peso corporal (p.c). Se dejaron en adaptación a las condiciones del bioterio durante 7 días, posteriormente se formaron cuatro lotes de mínimo 6 animales, aleatoriamente: testigo (agua, 1 mL/kg de p.c.), otro como testigo positivo al cual se le administró (furosemida 4mg/kg). A 2 lotes se les administró extracto acuoso (500 mg/kg), y liofilizado (100mg/kg) respectivamente. Se vació la vejiga de cada rata (t=0), se les administró el tratamiento vía oral y se colocaran en jaulas metabólicas durante 6 h. Transcurrido ese tiempo se colectó la orina (t=6) para medir volumen urinario ( $\mu$ L/min); se obtuvieron muestras sanguíneas y posteriormente el suero, se midieron osmolalidad, las concentraciones de sodio, potasio y creatinina. Con los datos que se obtenidos se calcularon la depuración osmolal, depuración agua libre, de creatinina, de sodio y potasio, así como la relación entre osmolalidad urinaria y plasmática (U/P), las excreciones urinarias y fraccionales de sodio y potasio.

**Resultados:** *Eysenhardtia polystachya* (Ort.)Sarg se conoce en la región de estudio como “palo dulce” principalmente, se emplea en infusión para tratar padecimientos renales dentro de los cuales destacamos su uso como diurético, se emplea sola y como agua de uso hasta desaparecer el malestar. El análisis fitoquímico preliminar reveló la presencia de alcaloides, flavonoides, azúcares reductores, taninos y quinonas.

En la evaluación diurética se observó un incremento en el volumen urinario estadísticamente significativo de los grupos tratados con la furosemida, así como con las dosis de extracto acuoso y liofilizado, con respecto al grupo testigo ( $p < 0.05$ ). En cuanto a las excreciones de sodio y potasio éstas se incrementaron en todos los grupos tratados con respecto al grupo testigo, sin embargo, únicamente el grupo tratado con el liofilizado a la dosis de (100 mg/kg) derivó en diferencia estadísticamente significativa para la excreción de potasio.

La depuración de creatinina, la osmolalidad sérica así como las concentraciones séricas de sodio y potasio no se modificaron con respecto al grupo testigo.

**Conclusiones:** existe congruencia entre los resultados etnobotánicos y los farmacológicos, y éstos contribuyen a explicar el empleo de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.)Sarg (palo dulce) como diurético.

Los resultados de la evaluación farmacológica sugieren que el extracto acuoso y el liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.)Sarg presentan efecto diurético.



# Introducción



## I. INTRODUCCIÓN

El ser humano desde su origen ha procurado su bienestar y una gran parte lo ha encontrado en la naturaleza. El estudio científico y el uso adecuado de las sustancias de origen natural con fines terapéuticos han sido tan antiguos como la astronomía, la física y la medicina (1).

La naturaleza ha sido una fuente de agentes medicinales por miles de años, una gran cantidad de los fármacos actuales han sido aislados de fuentes naturales, basándose principalmente en su uso en la medicina tradicional (2). Ácido salicílico, atropina, colchicina, digoxina, efedrina, morfina, fisostigmina, pilocarpina, quinina, quinidina, reserpina, tubocurarina, vincristina, y vinblastina son ejemplos de lo que las plantas medicinales nos han dado en el pasado. La mayoría de estos fármacos derivados de plantas fueron descubiertos originalmente a través del estudio de las curas tradicionales o del conocimiento tradicional de nativos y algunos de éstos no han podido ser sustituidos a pesar del enorme avance de la síntesis química. De hecho, las plantas son los amigos más longevos de la humanidad. No sólo proveen alimento y resguardo, si no también han servido a la humanidad para curar diferentes enfermedades (3)

Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud, ha estimado que más del 80% de la población mundial depende de las plantas para su atención primaria de la salud. Así mismo, se estima que la población mundial será de 7500 millones de personas para el año 2020, de las cuales el 75% vivirá en países en desarrollo y consumirá solo el 15% de los medicamentos totales del mercado. Estos datos permiten predecir que la mayoría de la población dependerá aun más de las plantas medicinales. Sin embargo, pocas plantas han sido científicamente estudiadas para garantizar su calidad, seguridad y eficacia (3, 4, 5, 6, 7).

Las plantas medicinales han sido comúnmente utilizadas para el tratamiento de algunas enfermedades renales y se ha reportado que una amplia variedad de plantas muestran una significativa actividad diurética; muchos investigadores han demostrado que estudios de las plantas utilizadas en la medicina tradicional como diuréticos se han incrementado en años recientes (8).

En México, la mayoría de las especies autóctonas utilizadas en la medicina tradicional cuentan aun con muy poca información generada a partir de métodos experimentales que respalden su uso desde una perspectiva biomédica, careciendo en este sentido de referentes sobre su efectividad, toxicidad y caracterización de metabolitos, entre otros (9).

## ANTECEDENTES

### Medicina Tradicional

El ser humano desde su origen tuvo que aprender a cazar vestirse y curarse para buscar la consecución de su bienestar. Es evidente que esta tendencia, inherente al ser humano, está presente en todo momento y en donde ha existido alguna sociedad, por primitiva que ésta parezca. Estas sociedades practicaban de manera empírica y a base de prueba y error muchas de las disciplinas científicas actuales. Fueron “arquitectos” al construir chozas, “físicos” al dominar el fuego y “médicos” al curar los diversos males que les aquejaban. Este último aspecto llevó al desarrollo de otras disciplinas como la farmacia, la farmacología, la farmacognosia e indudablemente a la medicina actual (1).

La medicina tradicional también conocida en algunas ocasiones como medicina herbolaria o medicina natural ha existido de alguna u otra manera en diferentes culturas/civilizaciones, como la China, Egiptia, Kampo (Japón) y Greco-Árabe o Unani/Tibb (Asia) (3).

La cultura China tuvo un gran auge en el estudio de las plantas, animales y minerales con fines terapéuticos. Estos conocimientos fueron plasmados en compendios de los cuales el más importante es el llamado *Pen tsao kang-mou* escrito en el año 2697 a.C. Durante el reinado del emperador *Shen Nong* considerado por muchos como el padre de la medicina China, a él se le reconoce el haber descubierto, o comenzar a utilizar epeira (*epeira sinica*), rhuibar (*Rheum*), ginseng (*Panax ginseng*), y la corteza de cassia (*Cinnamomum aromaticum*) (2).

Los ideogramas sumerios, datados aproximadamente 2500 a.C., mencionaban ya varias medicinas de origen vegetal. Los formularios terapéuticos mesopotámicos son conocidos en la actualidad gracias a las tablillas en escritura cuneiforme con listas de fármacos cuidadosamente redactadas en tiempos de los sumerios.

Quizás uno de los primeros documentos detallados es el *Códice de Hammurabi*, rey de Babilonia (1730 – 1685 a.C.), el cual contiene numerosas referencias sobre el uso de plantas curativas que siguen siendo utilizadas hasta nuestros días (1,2).

La medicina hindú se basó principalmente en el uso de las plantas. Los hindúes tenían un progreso en cuanto a cirugía se refiere, por ello muchas de las plantas que utilizaron poseían propiedades anestésicas o narcóticas, como marihuana (*Cannabis sativa*).

Uno de los más famosos médicos islámicos fue Ibn Sina (Avicena 980 – 1037 d.C.) autor del *Canon de Medicina*, este trabajo es la culminación y obra maestra de la sistematización de las ciencias médicas árabes, la cual incluye una gran cantidad de descripciones de la utilización de las plantas medicinales (3,10).

Las grandes aportaciones en medicina y farmacia del continente africano nacen en el antiguo Egipto. Los egipcios clasificaron a aquellas plantas y animales que tenían el poder de curar, enfermar o matar. Uno de los papiros más famosos es el papiro de *Ebers* (1550 a.C.) En este se describen más de 1000 recetas que incluyen entre otros productos vegetales, a la cebolla, al hinojo, el apio, el azafrán, algunos psicoestimulantes como el opio, café, cacao (1,2,3).

Posteriormente, estos conocimientos pasarían a manos de otras culturas, de donde el griego Hipócrates tomaría algunos de los principios y técnicas que llevo a Europa y que influyeron de manera importante en el desarrollo de la farmacia y la medicina (1).

Hipócrates (entre el siglo IV y III a.C.), conocido hoy en día como el padre de la medicina moderna, dio las directrices del empleo adecuado de las plantas medicinales. Aristóteles (384-322 a.C.) por otro lado, al igual que Platón (428-347 a.C.), describió las virtudes medicinales y propiedades tóxicas de un gran número de plantas conocidas en ese entonces. Galeno (129 – 200 d.C.) en su obra "*De simplicium medicamentorum temperamentos et facultativus*" examino aproximadamente 473 medicamentos de origen vegetal, mineral y animal. Más adelante Dioscórides (Siglo I d.C.) fue el médico botánico más importante e influyente en su tiempo. Dentro de sus obras resalta "*De materia médica*" la cual destaca la utilización de las plantas en el mantenimiento de la salud, además resulta importante debido a que en ella se encuentran las bases de los grandes herbarios europeos de la Edad Media (1,2).

La medicina tradicional tiene una larga historia. Actualmente ésta es definida por la Organización Mundial de la Salud como: la suma total del conocimiento, habilidades y práctica basada en las teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, utilizadas en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejoramiento o tratamiento de las enfermedades físicas o mentales(11).

### **Herbolaria Medicinal en México**

El conocimiento de la herbolaria en México tiene sus orígenes desde épocas prehispánicas, el descubrimiento del Continente Americano facilitó la fusión de diversas culturas, así como el enriquecimiento de los conocimientos médicos que los colonizadores poseían. Desde el siglo XIV, en Mesoamérica se desarrollaron varias culturas como la olmeca, la teotihuacana, la maya, la zapoteca, la purépecha, la tolteca y la azteca, entre otras.

De la cultura que se tiene mayor información sobre los conocimientos y prácticas médicas es la azteca debido a su predominio en el altiplano mexicano cuando llegaron los conquistadores europeos, la que aprovecharon para su beneficio durante la invasión de Tenochtitlan y el establecimiento de la Nueva España. Este hecho permitió que la mayor parte de los conocimientos herbolarios de los indígenas fueran documentados en códices.

De los principales legados sobre herbolaria y medicina de las culturas mesoamericanas tenemos aquellos que se realizaron a la llegada de los franciscanos a la Nueva España (1529). Entre ellos destaca Fray Bernardino de Sahagún quien se estableció en el imperial Colegio de Santa Cruz de Tlatelolco, que fue la primera casa de estudios superiores fundada en el México antiguo (1536). Sahagún fue comisionado en 1557 para recopilar datos acerca de los indígenas, de quienes recababa información en su lengua origen, el náhuatl. Su trabajo conocido como *Códice florentino*, en náhuatl, y su versión en español como *Historia general de las cosas de la Nueva España*, es un trabajo pionero de la etnografía azteca en la que describe los nombres y los usos de múltiples plantas medicinales y materiales de origen animal utilizados por los indígenas para el tratamiento de diversas enfermedades. De entre estas plantas destacan las que poseen efectos psicotrópicos (1, 12,13).

No menos importantes son los conocimientos de la gran cultura maya, que al igual que la mayoría de las culturas americanas, tuvo un gran conocimiento en cuanto al uso de plantas, para el tratamiento de diversas enfermedades, entre los mayas destacaban los procedimientos quirúrgicos, quiroprácticos y, sobretodo, la farmacoepa vegetal (2).

Por otro lado, Martín de la Cruz, un curandero indígena, describe los métodos curativos conocidos por él, los cuales se basan en el uso de las plantas, derivados de animales y algunos minerales. Como resultado en 1552 aparece un códice en latín llamado *Libellus de medicinalibus indorum herbis*, cuya importancia no sólo radica en el vasto conocimiento herbolario, sino en su contenido artístico al estar ilustrado con dibujos de plantas medicinales a color (mediante pigmentos vegetales y animales), sus nombres en náhuatl, la descripción de sus efectos y su aplicación. La versión en latín fue hecha por Juan Badiano, con cuyo nombre se conoce en la actualidad a dicho códice. Posteriormente, en 1570 Francisco Hernández es comisionado por Felipe II para estudiar la medicina indígena mexicana de donde resulta la obra *Historia de las Plantas*, donde nuevamente se destaca el amplio conocimiento en el manejo de las plantas medicinales para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades (1,12,13).

Desde 1975, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoció la importancia de la medicina tradicional en el control de la salud, en el año 1992 promovió una serie de recomendaciones para la regularización de los productos terapéuticos preparados con plantas medicinales (4,15).

El uso de plantas para recuperar la salud es una práctica común entre la población mexicana, especialmente debido a su situación geográfica, la cual provee una amplia diversidad de ellas y al uso tradicional inherente a diversos grupos étnicos (16). En algunos grupos de la población mexicana continúa siendo el único recurso para el tratamiento de las enfermedades. Debido a ello, la Secretaría de Salud reconoció la importancia de crear un marco de regulación para el control de las plantas medicinales como recursos terapéuticos, y a partir de 1998 reconoció al medicamento herbolario. Para el año 2001, se edita la primera farmacoepa herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (7,9).

Respecto al uso de las plantas medicinales en Hidalgo, los reportes más antiguos datan del siglo XVI en su Historia de las Cosas de la Nueva España, Fray Bernardino de Sahagún describió la utilización de 250 especies de plantas de Tepeapulco, uno de los actuales municipios de la entidad; y en la relaciones geográficas se citan especies de áreas ahora hidalguenses como Zempoala, Epazoyucan, Metztlán, Mixquiahuala y Huejutla. Se ha reportado el uso de algunas especies del Valle del Mezquital; de las plantas medicinales de Tulancingo y de la vertiente sur de la sierra de Pachuca (14).

En Hidalgo, en lo que corresponde a plantas medicinales, existen 461 especies encontradas a la fecha las cuales se distribuyen en 300 géneros y 108 familias. La familia *Asteraceae* es la mejor representada con 79 especies. A continuación está la *Leguminosae* con 34 especies, siendo una de estas especies *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg conocida comúnmente como palo dulce a la cual tradicionalmente se le ha atribuido actividad diurética (14,17).

La investigación sobre el uso de plantas medicinales forma parte de la etnobotánica que ha sido definida como el estudio de las interrelaciones entre los grupos humanos y las plantas (4). Por su naturaleza interdisciplinaria abarca muchas áreas, incluyendo botánica, química, farmacología, medicina, toxicología, agronomía, nutrición, antropología, historia, entre otras, lo cual permite un amplio rango de enfoques y aplicaciones (18).

Acorde a los objetivos y enfoques actuales de la etnobotánica, un proyecto etnobotánico multidisciplinario dentro de una comunidad o región determinada consta de las siguientes cuatro fases: a) documentación del conocimiento tradicional, b) determinaciones cuantitativas, c) evaluación fitoquímica, farmacológica y toxicológica, d) desarrollo de mecanismos para compensación a la comunidad (4).

a) documentación del conocimiento tradicional, esta fase está dirigida a registrar los usos tradicionales de las plantas medicinales dentro de un contexto cultural determinado. Acorde a Hernández-Xolocotzi metodológicamente, son 2 los aspectos principales para la obtención de la información.

- 1) realizar revisión de fuentes bibliográficas que incluyen las de tipo histórico y las actuales, esto nos permite obtener información sobre la especie de interés
- 2) Realizar trabajo de campo, mediante la aplicación de técnicas para registrar el conocimiento, como es la aplicación de cuestionarios a grupos poblacionales (19), para las cuales existen guías con recomendaciones útiles para registrar la información etnobotánica (20).

b) determinaciones cuantitativas, esta fase comprende la determinación cuantitativa de la importancia relativa, distribución y abundancia de las plantas medicinales usadas, su propósito fundamental es determinar cuan significativo es el uso de una especie o de una comunidad vegetal para un grupo humano, así como la identificación de posibles relaciones entre los usos tradicionales y variables ecológicas y socioeconómicas.

c) evaluación fitoquímica, farmacológica y toxicológica. En esta fase se selecciona a las plantas medicinales con mayor importancia cultural y se evalúa experimentalmente para conocer su composición química, estimar el potencial citotóxico de sus extractos y determinar si su actividad farmacológica se corresponde con los usos atribuidos por los consultantes. La utilidad de este enfoque para la selección de especies potenciales para el desarrollo de nuevos medicamentos ha sido sustentada por diversos autores.

d) desarrollo de mecanismos de compensación a la comunidad. Es necesario desarrollar mecanismos para compensar a la comunidad por su participación, siendo importante que los beneficios abarquen otros aspectos, no sólo económicos (4, 18,20).

## **PALO DULCE**

*Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.

**Sinónimos:** cuate (Jal.); coatillo (Pue.); coatl (l.náhuatl); cohuatli, cuatle (Oax.); lanaé (l. chontalpa, Oax.); palo cuate, rosilla (Sin.); palo dulce (Sin., Mex., Hgo., Pue., Mich.); taray (N.L.,Dgo.); tlapahuaxpatli ursa (l. otomí, Hgo.); varadulce, varaduz (Dgo.) (12,21).

En la figura 1 se muestra la planta palo dulce (*Eysenhardtia Polystachya*). Arbusto o árbol de 2 hasta 8 metros de altura, cuyas ramas jóvenes se recubren con pelos finos. Tiene las hojas divididas con apariencia plumosa. Sus flores son blancas, olorosas, agrupadas en racimos apretados y verticales. Los frutos son unas vainas café pálido, lisas y un poco punteadas. La madera de color café rojizo es muy dura y puesta en agua desprende una sustancia que tiñe de color amarillo azulado.

Planta originaria de Norteamérica, En nuestro país se encuentra silvestre desde Coahuila, Colima, Michoacán, Estado de México, Hidalgo, Puebla, hasta Guerrero y Chiapas. Habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado, ampliamente distribuida en ambas vertientes y en la parte central del país entre los 100 hasta los 2300 msnm (21). Cultivada en huertos o asociada a bosque tropical caducifolio, donde es abundante, bosque tropical subcaducifolio, matorral xerófilo, bosque espinoso, mesófilo de montaña, de encino y pino (12).

En el Estado de Hidalgo esta especie se localiza en los municipios del Arenal, Atotonilco el Grande, Metztlán, Pachuca y Zempoala. (14,17).



Figura 1. Palo dulce (*Eysenhardtia polystachya* Ort. Sarg.)

En el siglo XVI, Martín de la Cruz la relata para el hipo. El Códice florentino reporta: tomada el agua de la madera reposada para la tos, la orina, la calentura y la disuria. La cocción del tallo para el que escupe sangre. Nicolás Monardes, en el mismo siglo menciona: es útil para los que no orinan libremente, para dolor de riñones y de ijada, los que orinan con dolor, los que orinan poco, para el bazo, así como para el hígado. Se usa como diurético y para cólico renal; su complexión es caliente y seca en primer grado. Contemporáneo a Monardes fue Francisco Hernández, quien señala: es de naturaleza fría y húmeda, disminuye la acidez de la orina, extingue las fiebres y cura los cólicos. Añade alivia las inflamaciones de los ojos y los limpia de excrecencias. El cocimiento de la corteza evacua la orina y todo lo que puede impedirla, además detiene el flujo de sangre, y con la corteza se estriñe el vientre (12).

La madera fue exportada a Europa como *lignum nephriticum* en los siglos XVI y XVII y acaparó la atención por sus aparentes virtudes médicas, por su inusual color amarillo y por su pronunciada fluorescencia azul que desprende en infusión. El extracto acuoso de la madera es de interés histórico, siendo el indicador de fluorescencia ácido-base utilizado por Robert Boyle en el siglo XVII (aunque el término fluorescencia no se introdujo hasta mucho tiempo después) (22). A inicios del siglo XVIII, Juan de Esteyneffer la recomienda como diurético y para enfermedades renales, así como para el dolor de piedra (12). A mediados del siglo XVIII la madera llegó a ser rara en Europa y su origen botánico fue perdido (22).

La sociedad Mexicana de Historia Natural, en el siglo XIX describe su uso como diurético y para las epizootias de las gallinas (12). En el siglo XX, Martínez la refiere para las afecciones renales, como: antiespasmódica, antipirética, cicatricial, diurética, en enfermedades de los ojos y para lavar la vías urinarias (23).

En la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos se hace referencia a su uso etnobotánico, para tratar afecciones en los riñones (9); de igual manera se menciona en la lista de plantas útiles del estado de Hidalgo (14).

En el tallo se han identificado los flavonoides dimetoxi-metilendioxi-pterocarpan y dehidrorotenona, el esteroide beta-sitosterol y un componente de estructura no determinada, el aglustegorretoside. En la corteza del tallo se han detectado los mismos componentes además del triterpeno beta-amirina. En el duramen el flavonoide hidroximetoxi isoflavona, y en la madera del tronco, los flavonoides coatline A y B y la cumarina flemichaparin (12). Álvarez y Delgado aislaron varios isoflavonoides de la corteza y reportaron la estructura de cuatro  $\alpha$ -hidroxidihidrochalcones (24). En estudios realizados a *Eysenhardtia polystachya* (Ort) Sarg., se han identificado diversas sustancias que en experimentos demostraron tener actividad citotóxica y antimicrobiana. En estudios más recientes se ha evaluado el efecto de isoflavonas aisladas de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* sobre el crecimiento de cristales urinarios (25). Sin embargo, el efecto diurético no ha sido evaluado.

## DIURÉTICOS

Los diuréticos constituyen un grupo indispensable de medicamentos terapéuticos que se usan para ajustar el volumen, o la composición o ambos, de los líquidos corporales en diversas situaciones clínicas, entre ellas hipertensión, insuficiencia cardíaca aguda y crónica, insuficiencia renal aguda y crónica, así como el síndrome nefrótico y cirrosis hepática (26,27). Los diuréticos actúan fundamentalmente disminuyendo la absorción tubular de  $\text{Na}^+$ , pero también pueden ejercer efectos sobre otros cationes ( $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , y  $\text{Mg}^{2+}$ ) así como aniones ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , y  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y el ácido úrico.

Los diuréticos pueden clasificarse según diversos criterios: por la potencia diurética, la duración del efecto, la estructura química o el mecanismo de acción. De acuerdo con su mecanismo de acción se clasifican en:

## DIURÉTICOS

- Inhibidores de la anhidrasa carbónica
- Diuréticos osmóticos
- Diuréticos de asa (inhibidores del simporte  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2 \text{Cl}^-$ )
- Diuréticos tiazídicos (Inhibidores del cotransportador  $\text{Na}^+-\text{Cl}^-$ )
- Inhibidores de los canales de  $\text{Na}^+$  de la membrana epitelial
- Antagonistas de receptores de mineralocorticoides.

Casi todos los diuréticos ejercen sus efectos en la superficie luminal de las células del túbulo renal. Sus mecanismos de acción incluyen las interacciones estereoselectivas con proteínas de transporte específicas de membrana, efectos osmóticos que previenen que los segmentos de la nefrona permeables al agua, absorban ésta, y las interacciones específicas con las enzimas o los receptores hormonales en las células epiteliales renales (28).

Por definición los diuréticos son fármacos que aumentan la tasa de flujo urinario, aun así, los que son útiles en clínica también incrementan la tasa de excreción de  $\text{Na}^+$  (natriuresis) y de un anión acompañante generalmente  $\text{Cl}^-$ .

En el organismo, el  $\text{NaCl}$  es el principal determinante del volumen del líquido extracelular, y casi todas las aplicaciones clínicas de los diuréticos se dirigen a reducir dicho volumen al disminuir el contenido corporal total de  $\text{NaCl}$ . Un desequilibrio sostenido entre la ingestión de  $\text{Na}^+$  en la dieta y la pérdida del  $\text{Na}^+$  es incompatible con la vida. Un balance positivo sostenido del  $\text{Na}^+$  daría como resultado sobrecarga de volumen con edema pulmonar, y uno negativo sostenido originaría disminución del volumen y colapso cardiovascular (27).

### **Diuréticos de asa**

Los inhibidores del cotransportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  constituyen un grupo de diuréticos que tienen en común su capacidad para inhibir el transportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  en la rama ascendente gruesa del asa de Henle. Por ello, este grupo de diuréticos también se les conoce como diuréticos del asa (29). Estos fármacos alcanzan su lugar de acción en la membrana apical no solo por filtración, sino también por secreción en la nefrona a través del mecanismo de secreción de ácidos orgánicos, presente en el túbulo proximal.

Actualmente se acepta que en la rama gruesa ascendente, el flujo de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  desde la luz tubular hacia las células epiteliales es mediada por el cotransportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ . Los inhibidores del cotransportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  aumentan la excreción urinaria de  $\text{K}^+$  debido, en parte, al aumento del paso de  $\text{Na}^+$  hacia la parte final del túbulo distal y también como consecuencia del aumento de la actividad de la aldosterona, la cual facilita la eliminación de  $\text{K}^+$  (27).

La furosemida se administra vía intravenosa, intramuscular o vía oral, produciendo una diuresis abundante, la acción de furosemida es rápida y de corta duración; vía oral el efecto comienza a los 30-60 minutos (29).

## **FUNCIÓN RENAL**

Los riñones son imprescindibles para regular la composición y el volumen del medio líquido extracelular. Mantienen un medio interno relativamente estable eliminando en la orina cantidades apropiadas que incluyen productos metabólicos de desecho y productos extraños al organismo. También se eliminan compuestos útiles para el organismo, pero que se encuentran en exceso, ya sea por su ingestión en la dieta o en la producción metabólica. Los riñones llevan a cabo una gran variedad de funciones vitales:

1. Regulan la presión osmótica del medio extracelular (osmolalidad) eliminando orina concentrada o diluida.
2. Regulan la concentración plasmática de numerosos iones, incluyendo sodio, potasio, calcio, magnesio, cloruro, bicarbonato, fosfato y sulfato.
3. Intervienen en la regulación del equilibrio ácido-base, excretando iones hidrogeno cuando hay un exceso de ácido o bicarbonato cuando hay un exceso de base.
4. Regulan el volumen de líquido extracelular controlando la excreción de sodio y agua.
5. Intervienen en la regulación de la presión arterial ajustando la excreción de sodio y produciendo sustancias (como renina) que afectan la presión arterial.
6. Eliminan productos metabólicos de desecho incluyendo la urea, (el principal producto final, en el hombre, en el metabolismo de compuestos nitrogenados), el ácido úrico (producto final del metabolismo de las purinas) y la creatinina (producto final del metabolismo muscular).
7. Eliminan numerosos fármacos y compuestos extraños o tóxicos.
8. Producen hormonas como la eritropoyetina y la 1,25-dihidroxianocobalamina.
9. Degradan hormonas polipeptídicas como la insulina y el glucagón.
10. sintetizan amonio, de importancia para el equilibrio ácido-base. sintetizan sustancias que afectan el flujo sanguíneo renal y la excreción de sodio, como los derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas y tromboxano A<sub>2</sub>) (30).

Respecto a la fisiología renal, es aceptado que:

- a) el glomérulo es un filtro por el que pasa, desde los capilares a la cápsula de Bowman, un líquido cuya composición es la del plasma sanguíneo menos las proteínas -ultrafiltración-.
- b) a nivel de los túbulos renales se reabsorben sustancias en forma selectiva y diferencial.
- c) los túbulos renales secretan sustancias desde la sangre a su luz.
- d) las células del epitelio renal forman sustancias nuevas.

De esta forma el riñón actúa fundamentalmente para mantener o restaurar el volumen normal de los líquidos en el organismo y la concentración de sustancias de los mismos, esencialmente electrolitos, así como para eliminar las sustancias de desecho o extrañas al organismo. Los riñones filtran cerca de 180 L de fluidos cada día; de esta cantidad, estos excretan únicamente 1.5 L como orina. Por lo tanto, más del 99% del filtrado glomerular es reabsorbido a torrente sanguíneo (31).

#### Aclaramiento renal

Desde el punto de vista de la función renal es útil, a veces, considerar los riñones órganos que depuran el plasma de sustancias. En efecto, cuando una sustancia es excretada en orina, un volumen determinado de plasma queda libre de esa sustancia (se depura).

El aclaramiento renal de una sustancia determinada puede definirse como el volumen de plasma por minuto que se necesita para excretar la cantidad de sustancia que aparece en orina por minuto.

Uno de los parámetros clave para evaluar la función renal es la velocidad de filtración glomerular (VFG): la velocidad a la que el plasma es filtrado por el glomérulo renal. Los valores normales de VFG (referidos a una superficie corporal de 1.73m<sup>2</sup>) son 110 mL/min para mujeres adultas jóvenes y de 120 mL/min para varones adultos jóvenes (30).

#### Creatinina

Es un producto final del metabolismo de la creatina del músculo y deriva de la fosfocreatina muscular; por lo tanto su producción es directamente dependiente de la masa muscular. Al estado estacionario, la concentración normal de creatinina es aproximadamente 0.5 -1.5 mg/dL, aunque varios factores, como la edad, masa corporal y género, afectan la concentración. La creatinina es eliminada principalmente por filtración glomerular, y a medida que la velocidad de filtración glomerular disminuya, la concentración de creatinina sérica aumentará (32).

La concentración de creatinina en plasma y en orina puede medirse mediante un simple método colorimétrico basado en la reacción de creatinina con picrato alcalino (reacción de Jaffé).

Creatinina sérica, valores normales: 0.7 – 1.5 mg/dL o 62 -133 µmol/L para adultos; 0.2 - 0.7 mg/dL o 18 – 62 µmol/L para infantes.

Dado que los riñones continuamente aclaran el plasma de creatinina y lo excretan en la orina, la velocidad de filtración glomerular y la concentración plasmática de creatinina están inversamente relacionadas (30).

### Depuración de creatinina

Desde una perspectiva práctica la depuración de creatinina provee la mejor aproximación de la velocidad de filtración glomerular. La creatinina es eliminada por filtración glomerular y secreción tubular. La secreción tubular aumenta la creatinina filtrada en un 10% en sujetos con función renal normal, sin embargo, incrementos hasta el 100% se observan en personas con insuficiencia renal. Como se desarrolla el daño renal, la hipertrofia de nefronas es constante, y el grado de secreción tubular disminuye desproporcionadamente (32).

### Concentración y dilución de orina

La concentración total de solutos en la orina formada por el riñón humano puede ser mucho mayor o mucho menor que la del plasma. Los valores máximos y mínimos de la osmolalidad de la orina humana son de alrededor de 1,200 -1,400 mOsm/kg H<sub>2</sub>O, y 30 -40 mOsm/kg H<sub>2</sub>O respectivamente.

Como el túbulo colector pasa por la médula hipertónica y la orina formada está en equilibrio osmótico con el intersticio hipertónico, la concentración urinaria depende del segmento medular externo de la rama ascendente del asa de Henle, que crea dicho intersticio hipertónico. Dependiendo de la especie y del estado de hidratación, aproximadamente entre el 50 - 70% del filtrado glomerular es reabsorbido isosmóticamente en el túbulo proximal; el fluido remanente entra en el asa de Henle. En la rama descendente, se pierde agua por el intersticio medular hipertónico, y el fluido en el extremo del asa es hipertónico (30).

### **osmolalidad**

La osmolalidad depende por completo del número de partículas primarias (moléculas iones ambos sin disociarse) que existen en solución. La concentración teórica de electrolitos referida a miliosmoles es de 288.5 por litro de plasma que llega a ser de 308.8 cuando se expresa por litro de agua plasmática, la concentración total de electrolitos es aproximadamente de 330mEq, en contraste con los 309mosmol/Kg de agua plasmática (31).

La capacidad de los riñones para concentrar y diluir puede expresarse cuantitativamente empleando las determinaciones de la aclaración de los osmoles y del agua libre. La depuración osmolal representa el volumen de agua plasmática aclarada de solutos (o presión osmótica por unidad de tiempo). Cuando el valor de la depuración de agua libre es positivo, representa el volumen de agua exenta de solutos aclarados del plasma por unidad de tiempo. Cuando su valor es negativo, la concentración de agua es el volumen de agua exenta de osmoles, añadido al plasma por unidad de tiempo (aclarado del filtrado tubular).  $C_{H_2O}$  es positivo cuando la orina esta diluyéndose ( $U_{osm} / P_{osm} < 1$ ) y es negativo cuando la orina se esta concentrando ( $U_{osm} / P_{osm} > 1$ ).

En la diuresis moderada de agua, la  $C_{H_2O}$  puede alcanzar 10 a 15 mL/min. En las orinas concentradas al máximo la  $C_{osm}$  puede alcanzar aproximadamente 6mL/min. La relación U/P es una medida de la cantidad de agua filtrada que se ha eliminado en la formación de la orina final. La relación de  $U_{osm} / P_{osm}$  oscila de 0.2 a 4.7; en circunstancias normales, la relación es superior a 1, mientras que en la insuficiencia renal, la relación es alrededor de 1(30).

## **Electrolitos**

### **Sodio**

Valores normales: 136 – 145 mEq/L o 136 – 145 mmol/L

Es el catión más abundante en el líquido extracelular, siendo el mayor contribuidor para la osmolalidad sérica, la cual es importante en el control del flujo de agua entre espacios intracelular y extracelular (intravascular e intersticial) de los fluidos.

El rol principal del sodio es la regulación de la osmolalidad sérica, de los fluidos, y el balance ácido-base.

Los riñones son los órganos responsables de controlar el agua y sodio corporales, cuando se presentan anomalías los riñones están involucrados. El glomérulo recibe y filtra cerca de 180 L de agua y 600g de sodio (aproximadamente 26,000mEq) de sodio por día. Menos de 2 L de agua y de 0.1 – 40g de sodio finalizan en la orina, dependiendo de la cantidad de fluidos. La mayor parte de agua y sodio son reabsorbidos en los túbulos proximales. Sin embargo, las áreas principales en el control de agua y sodio son los túbulos distales y colectores. La aldosterona actúa en ambos sitios, mientras que la hormona antidiurética (ADH) actúa principalmente en los túbulos colectores. (31,33).

### **Potasio**

Valores normales: 3.5 – 5.0 mEq/L o 3.5-5.0mmol/L

El potasio es el principal catión en el espacio intracelular, con un promedio de concentración en el líquido intracelular de 140mEq/L (140mmol/L). La principal función fisiológica del potasio es la regulación de la excitabilidad nerviosa y muscular. Otras funciones, incluyen el control del volumen intracelular (similar al control del sodio del volumen), síntesis de proteínas, reacciones enzimáticas, y metabolismo de carbohidratos.

El cuerpo esencialmente tiene dos vías para reducir una concentración elevada de potasio. Una vía rápida es introducir potasio a las células; la otra es la eliminación renal. Los riñones son los principales órganos involucrados en el control y eliminación de potasio.

El potasio es libremente filtrado en el glomérulo y se reabsorbe casi completamente antes de que el filtrado alcance los túbulos distales. Aproximadamente 10% del potasio filtrado es secretado desde los túbulos distal y colector en orina. Lo que indica que la concentración de potasio urinario se debe más a secreción tubular que a la filtración glomerular.

Varios mecanismos están involucrados en el intercambio de sodio-potasio en el túbulo distal. Este intercambio da como resultado una secreción de potasio renal y reabsorción de sodio. La aldosterona es un factor importante, ya que incrementa la secreción de potasio en orina (31,33).



# Justificación



## II. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con lo expresado por la Organización Mundial de la Salud, 80% de la población mundial depende de las plantas para su atención primaria de la salud en los países en desarrollo. Así mismo, se estima que la población mundial será de 7500 millones de personas para el año 2020, de las cuales el 75% vivirá en países en desarrollo y consumirá solo el 15% de los medicamentos totales del mercado. Estos datos permiten predecir que la mayoría de la población dependerá aun más de las plantas medicinales.

En México a pesar de la riqueza y variedad de la flora medicinal pocas especies han sido científicamente estudiadas para garantizar su calidad, seguridad y eficacia. Hay una gran variedad de especies vegetales reportada con actividad diurética, pero no todas cuentan con un respaldo científico que corrobore dicha actividad.

Debido a lo anterior en el presente estudio se pretende contribuir en este aspecto evaluando el efecto diurético de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. Perteneciente a la familia *Leguminosae* colectada en Zempoala, Estado de Hidalgo. Lo que servirá de base para continuar su utilización como una alternativa terapéutica en numerosos procesos patológicos, que se tratan con diuréticos como la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, la insuficiencia renal, el síndrome nefrótico y la cirrosis hepática, padecimientos los cuales se encuentran dentro de las diez primeras causas de mortalidad en México.



# Hipótesis



### III. HIPÓTESIS

Si, se afirma en la medicina tradicional que *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. es útil por su efecto diurético, entonces, se espera que al evaluar este efecto farmacológico en la rata, ésta presente diuresis.



# Objetivos



#### IV. OBJETIVOS

##### OBJETIVO GENERAL

- Realizar un estudio etnobotánico de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, perteneciente al municipio de Zempoala, Hidalgo y Evaluar el efecto diurético del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. en rata.

##### OBJETIVOS PARTICULARES

- Colectar e identificar la especie vegetal.
- Obtener el extracto acuoso y el liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. y establecer las dosis a utilizar acorde a su uso tradicional.
- Identificar por medio de pruebas fitoquímicas, los metabolitos presentes en el extracto acuoso y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.
- Evaluar el balance hidro-electrolítico, así como la velocidad de filtración glomerular en presencia y ausencia de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.



# Material



## MATERIAL Y EQUIPO

### Material biológico

Ejemplares de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.

Ratas hembra de la cepa Wistar de peso corporal de  $200 \pm 20$ g.

### Material

Tubos de ensaye

Tubos Eppendorff

Matraces volumétricos de 5, 10, 25, y 500 mL

Vasos de precipitados

Micropipetas de 250 y 1000  $\mu$ l

Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL

Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 mL

Papel parafilm

Jeringas de 1mL con cánula

Algodón

Estuche de disección

## **Reactivos**

Cloruro de sodio anhidro

Cloruro de potasio anhidro

Éter anhidro

Ácido pícrico

Creatinina

Ácido tricloroacético

Agua desionizada

Agua bidestilada

Hidróxido de sodio

Furosemida (Lasix®)

## **Equipo**

Jaulas metabólicas

Balanza con canastilla

Parrilla

Espectrofotómetro (Spectronic 20D)

Flamómetro (CORNING mod.400)

Centrifuga Beckman GS-6

Osmómetro (WESCOR mod. 5500)

Balanza Analítica (Sartorius H1 10)

Agitador mecánico



# Metodología



## **VI. METODOLOGÍA**

### **6.1. Obtención del material vegetal**

La planta se obtuvo en el municipio de Zempoala, Hidalgo en el mes de octubre y fue identificada en el departamento de Botánica de la ENCB-IPN. Por la bióloga Laura Duval Ugalde.

### **6.2. Estudio etnobotánico**

Esta parte del trabajo se dividió en 2 fases: la primera corresponde a la revisión de fuentes de información bibliográfica acerca de la especie vegetal en estudio; y la posterior se refiere a la realización de trabajo de campo (19,34).

Para la realización de trabajo de campo se aplicaron 100 cuestionarios en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, perteneciente al municipio de Zempoala, Hidalgo (figura 2).

Como se observa en la figura 3, se solicitó información sobre los nombres comunes con que se conoce a la planta, su forma de preparación, etc.  
Consulta de fuentes de Información

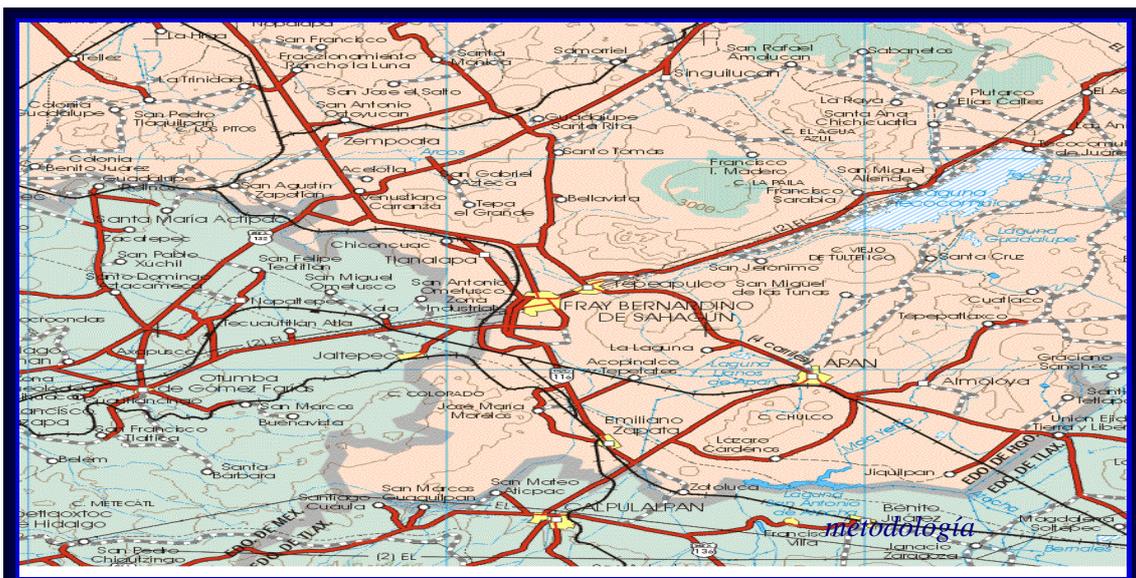


Fig. 2. Ubicación geográfica de la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, perteneciente al municipio de Zempoala, Hidalgo.



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FARMACIA  
LABORATORIO DE  
FARMACOLOGÍA/TOXICOLOGIA RENAL Y  
HEPÁTICA**



|                    |                 |                  |                |             |
|--------------------|-----------------|------------------|----------------|-------------|
| <b>Consultante</b> | <b>Vendedor</b> | <b>Curandero</b> | <b>Usuario</b> | <b>Otro</b> |
|                    |                 |                  |                |             |

**Nombre del consultante:** \_\_\_\_\_

**Lugar y Fecha de la encuesta:** \_\_\_\_\_

**¿Con que nombres conoce a esta planta?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**¿Para que la utilizan (nombre de la enfermedad, síntoma tratado, supuesta acción farmacológica)?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**¿Qué parte de la planta utiliza?**

|      |       |       |      |       |
|------|-------|-------|------|-------|
| raíz | tallo | hojas | flor | fruto |
|------|-------|-------|------|-------|

**¿Qué cantidad de la planta utiliza?**

\_\_\_\_\_

**¿La combina con otra planta?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**¿Cuál es la forma de preparación?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**¿Cuanto es lo que consume y durante cuanto tiempo?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Observaciones**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

|   |                        |
|---|------------------------|
| <b>Encuestador: P.L.F. Margarito Salazar R.</b> | <b>No de encuesta:</b> |
|---|------------------------|

Fig. 3. Cuestionario para la obtención de información etnobotánica sobre *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. "palo dulce"

### **6.3. Preparación del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.**

#### ***Extracto acuoso***

El material vegetal en estudio (tallo de la planta) se trituró y se pesaron 50 gramos, los cuales se transfirieron a un vaso de precipitados con 100 mL de agua, se tapó y se calentó a ebullición por 5 minutos. Transcurrido este tiempo se retiró de la fuente de calor y se dejó enfriar (16,34).

#### ***Liofilizado***

Se pesaron 500 g del tallo de la planta, se lavó y se colocó en un recipiente con 2.5 L de agua, se dejó hervir durante 5 minutos, transcurrido el tiempo se dejó enfriar el extracto y se filtró posteriormente se colocó en un matraz balón y se procedió a evaporar el agua a presión reducida en un rotavapor hasta la obtención de una sustancia siruposa, la cual se colocó en un recipiente apropiado, hasta terminar de concentrar todo el extracto. Lo obtenido se liofilizó, una vez obtenido el liofilizado este se pesó y se preparó la solución acuosa acorde a la dosis a administrar (16,34).

### **6.4. Análisis fitoquímico preliminar**

A una muestra del extracto acuoso y del liofilizado se realizaron pruebas químicas para determinar la presencia de metabolitos secundarios, de acuerdo a lo propuesto por Domínguez, (35). La metodología empleada se muestra en la figura 4.

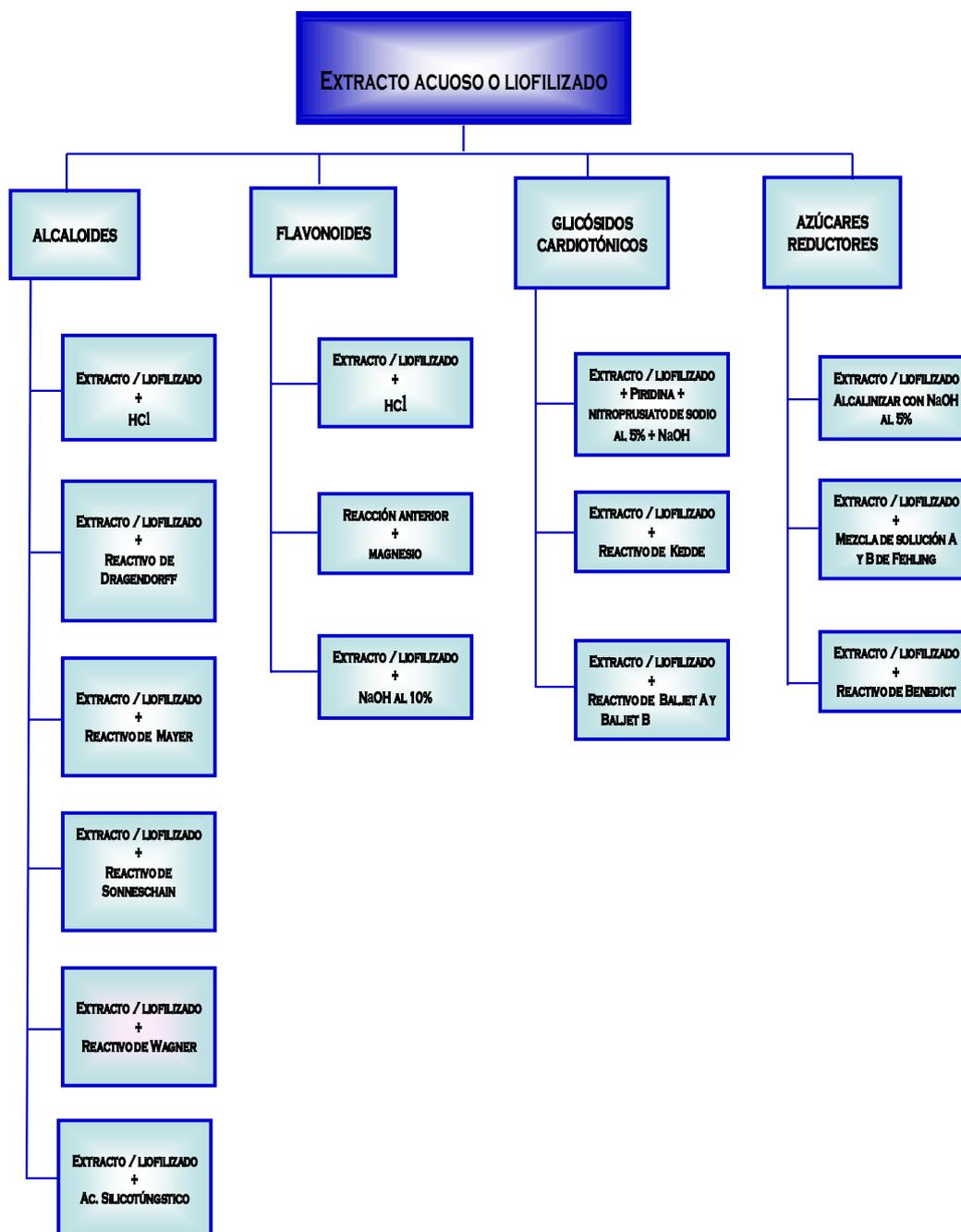


Fig. 4. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg

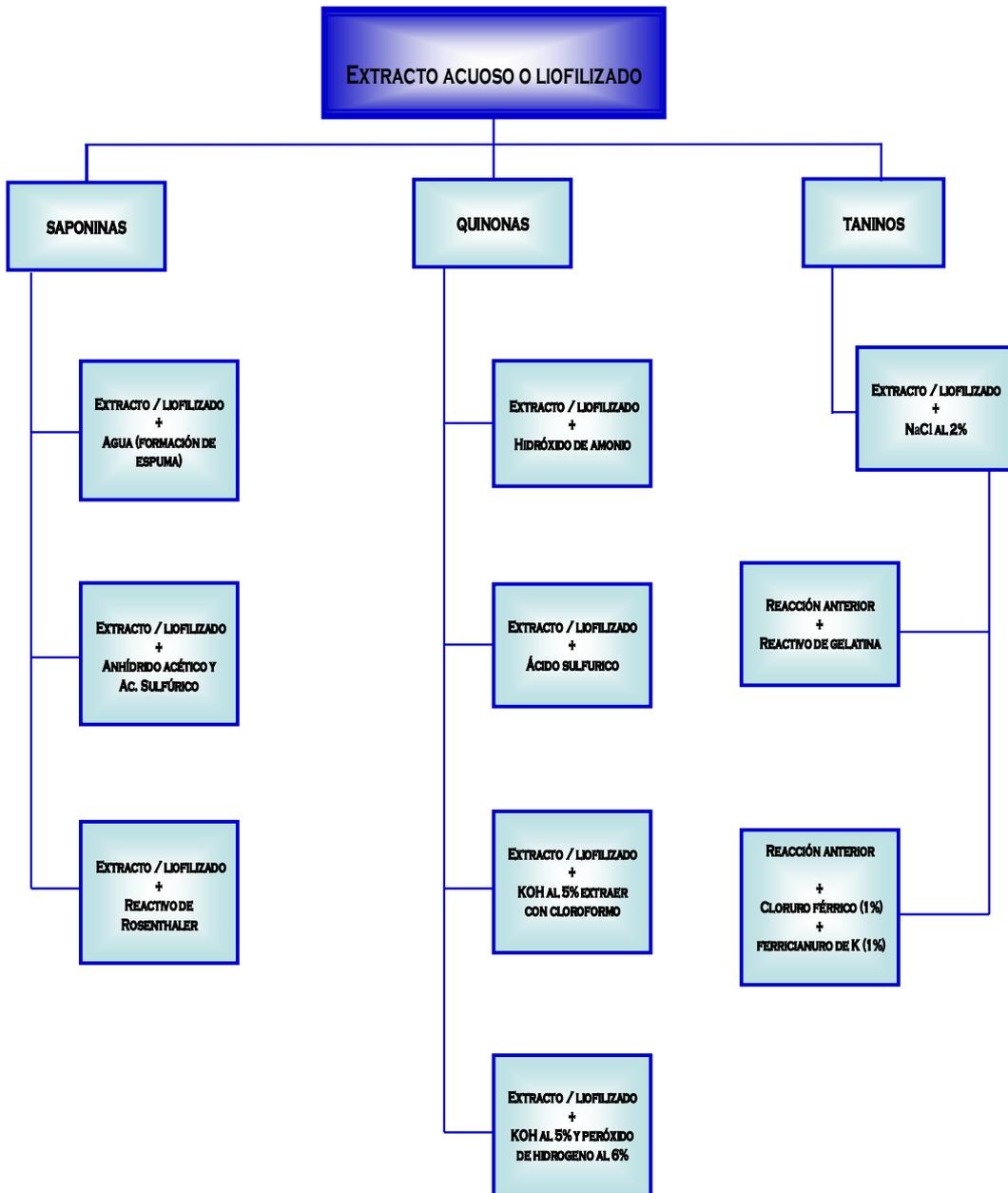


Fig. 5. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg

### 6.5. Evaluación de la actividad diurética

Como se muestra en la figura 5 se utilizaron ratas hembras Wistar de  $200 \pm 20$  g de peso corporal. Las cuales se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos, el número de animales por grupo no fue menor de 10. Se dejaron para su acondicionamiento en el bioterio por 7 días. Acorde a las especificaciones técnicas para la producción, el cuidado y uso de los animales de laboratorio (36).

El día del experimento se pesó y marcaron a los animales de experimentación y posteriormente se vació la vejiga de cada uno por una ligera compresión abdominal (t=0) (37).

El primer grupo se considero como testigo al cual se le administró por una cánula intragástrica el vehiculo (agua, 1 mL/kg de peso corporal); al segundo grupo, testigo positivo del efecto diurético al cual se le administró furosemida a una dosis de 4 mg/kg; al tercer grupo se le administró el extracto acuoso de la planta *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. a la dosis de 500 mg/kg y al cuarto grupo se le administró el liofilizado a la dosis de 100 mg/kg..

Después del tratamiento correspondiente, las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas y se les suspendió la ingesta de agua y alimento durante 6 horas (t=6), transcurrido ese tiempo se midió el volumen urinario y se obtuvieron muestras sanguíneas de la porción abdominal de la aorta, las cuales posteriormente se centrifugaron a 6000 rpm, durante 10 minutos para obtener el suero.

En ambas muestras (orina y suero) se midieron la osmolalidad, las concentraciones de sodio, potasio y creatinina.

Con los datos que se obtenidos se calculó las depuraciones osmolal, de agua libre, de creatinina, de sodio y potasio, así como la relación entre osmolalidad urinaria y plasmática (U/P), las excreciones urinarias y fraccionales de sodio y potasio. (38).



### 6.5.1. Efecto de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre el balance hídrico en la rata

Se determinó la osmolalidad tanto de la orina como la del suero en un osmómetro (WESCOR modelo 5500) por triplicado y se midió el volumen urinario. Con estos parámetros se calculó:

- La depuración osmolal ( $C_{osm}$ ) a partir de la formula 1

$$C_{osm} = \frac{(U_{osm}) (Vol. Urinario)}{P_{osm}}$$

fórmula (1)

Donde  $C_{osm}$  es la depuración osmolal,  $U_{osm}$  es la osmolalidad en orina.  $P_{osm}$  es la osmolalidad plasmática y Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo

- La depuración de agua libre ( $C_{H_2O}$ ) a partir de la formula 2

$$C_{H_2O} = Vol. Urinario - C_{osm}$$

fórmula (2)

Donde  $C_{H_2O}$  es la depuración de agua libre, Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo y  $C_{osm}$  es la depuración osmolal.

### 6.5.2. Efecto de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre el balance electrolítico en la rata

El aclaramiento renal de una sustancia determinada puede definirse como el volumen de plasma por minuto que se necesita para excretar la cantidad de sustancia que aparece en orina por minuto. La fórmula para calcular el aclaramiento es:

$$C_x = \frac{U_x \times V}{P_x}$$

fórmula (3)

Donde X es la sustancia en estudio,  $C_x$  es el aclaramiento renal de la sustancia X,  $U_x$  es la concentración de la sustancia en orina;  $P_x$  es la concentración plasmática de la sustancia y V es el volumen de orina producido por unidad de tiempo. El producto  $U_x \times V$  es la velocidad de excreción por minuto y tiene dimensiones de cantidad por unidad de tiempo (mg/min, o mEq/día). Para determinar el aclaramiento de una sustancia se miden su concentración en orina y en plasma, y el flujo de orina (volumen de orina/ tiempo de toma de orina). Estos valores se sustituyen en la fórmula de aclaramiento.

Se cuantificarán las concentraciones de sodio y potasio en las muestras de orina y suero por medio de un flamómetro (CORNING modelo 400); con los datos obtenidos se calcularon:

- La depuración de sodio ( $C_{Na^+}$ ), a partir de la fórmula 4

$$C_{Na^+} = \frac{(U_{Na^+}) (\text{Vol. Urinario})}{P_{Na^+}}$$

fórmula (4)

Donde  $U_{Na^+}$  es la concentración de sodio en orina.  $P_{Na^+}$  es la concentración plasmática de sodio y Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo.

- La depuración de potasio ( $C_{K^+}$ ), a partir de la fórmula 5

$$C_{K^+} = \frac{(U_{K^+}) (\text{Vol. Urinario})}{P_{K^+}}$$

fórmula (5)

Donde  $U_{K^+}$  es la concentración de potasio en orina.  $P_{K^+}$  es la concentración plasmática de potasio y Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo.

### 6.5.3 Efecto de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre la velocidad de filtración glomerular (VFG)

La cuantificación de la concentración de creatinina tanto en las muestras de orina como en las de suero se realizó mediante el método modificado de Jaffé (38). La velocidad de filtración glomerular se determinó a partir de la depuración de creatinina. Con estos datos se calculo.

- La velocidad de filtración glomerular (VFG)

El aclaramiento de la creatinina endógena se calculó a partir de la fórmula 3, sustituyendo:

$$C_{\text{creatinina}} = \frac{U_{\text{creatinina}} \times \text{Vol. urinario}}{P_{\text{creatinina}}}$$

fórmula (6)

Donde  $U_{\text{creatinina}}$  es la concentración de creatinina en orina.  $P_{\text{creatinina}}$  es la concentración plasmática de creatinina y Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo.

- La excreción fraccional de sodio ( $EF_{\text{Na}^+}$ ), a partir de la formula 7

$$EF_{\text{Na}^+} = \frac{C_{\text{Na}^+}}{C_{\text{creatinina}}} * 100$$

fórmula (7)

Donde  $C_{\text{Na}^+}$  es la depuración de sodio.  $C_{\text{creatinina}}$  es la depuración de creatinina y Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo.

- La excreción fraccional de potasio ( $EF_{\text{K}^+}$ ), a partir de la fórmula 8

$$EF_{\text{K}^+} = \frac{C_{\text{K}^+}}{C_{\text{creatinina}}} * 100$$

fórmula (8)

Donde  $C_{\text{Na}^+}$  es la depuración de potasio.  $C_{\text{creatinina}}$  es la depuración de creatinina y Vol. Urinario es el volumen de orina producido por unidad de tiempo.

### **6.6. Análisis Estadístico**

Los resultados obtenidos fueron evaluados por análisis de varianza (ANOVA) y el método de Bonferroni; considerándose una diferencia estadísticamente significativa cuando  $p < 0.05$ .



# Resultados



## VII. RESULTADOS

### 7.1. Estudio etnobotánico

#### ● Consulta de fuentes de información

Se consultó la literatura sobre plantas medicinales de nuestro país y se realizó una búsqueda de información a través de revistas de carácter científico. Los resultados de esta búsqueda son los siguientes: *Eysenhardtia Polystachya Ort Sarg*, es conocida comúnmente como palo dulce, palo azul, en el tallo se han encontrado los flavonoides dimetoxi-metilendioxi-pterocarpan y dehidrorotenona, el esteroide beta-sitosterol, el triterpeno beta-amirina los flavonoides coatline A y B y la cumarina flemichaparín (12). En la corteza se han aislado recientemente isoflavonoides y  $\alpha$ -hidroxidihidrochalcones (24).

La infusión o la decocción se utilizan en problemas renales, abarcando el mal de orín, los cálculos y como desinflamatorio, popularmente se le atribuyen propiedades **diuréticas** y anticonceptivas (12).

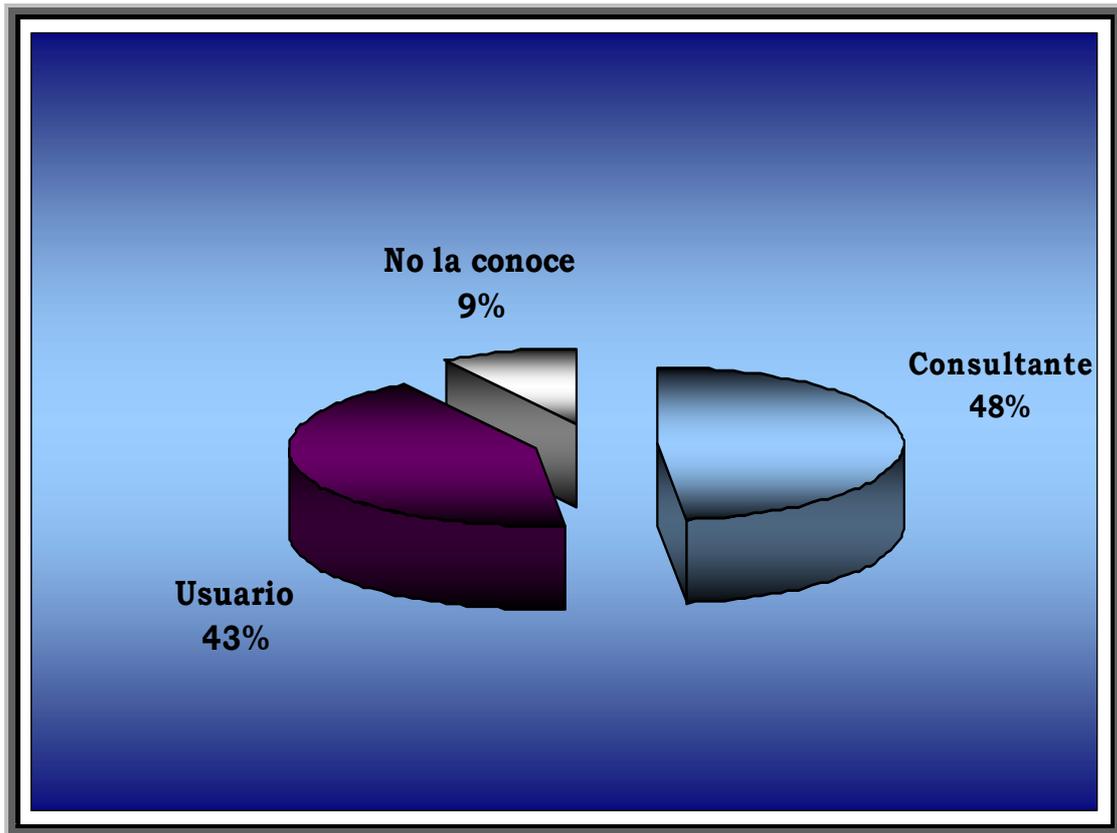
Farmacológicamente, se han identificado flavononas con actividad antibacterial y antifúngica. En estudios mas recientes se ha evaluado el efecto de isoflavonas aisladas de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* sobre el crecimiento de cristales urinarios confirmando el uso de la planta en la urolitiasis (25).

#### ● Trabajo de Campo

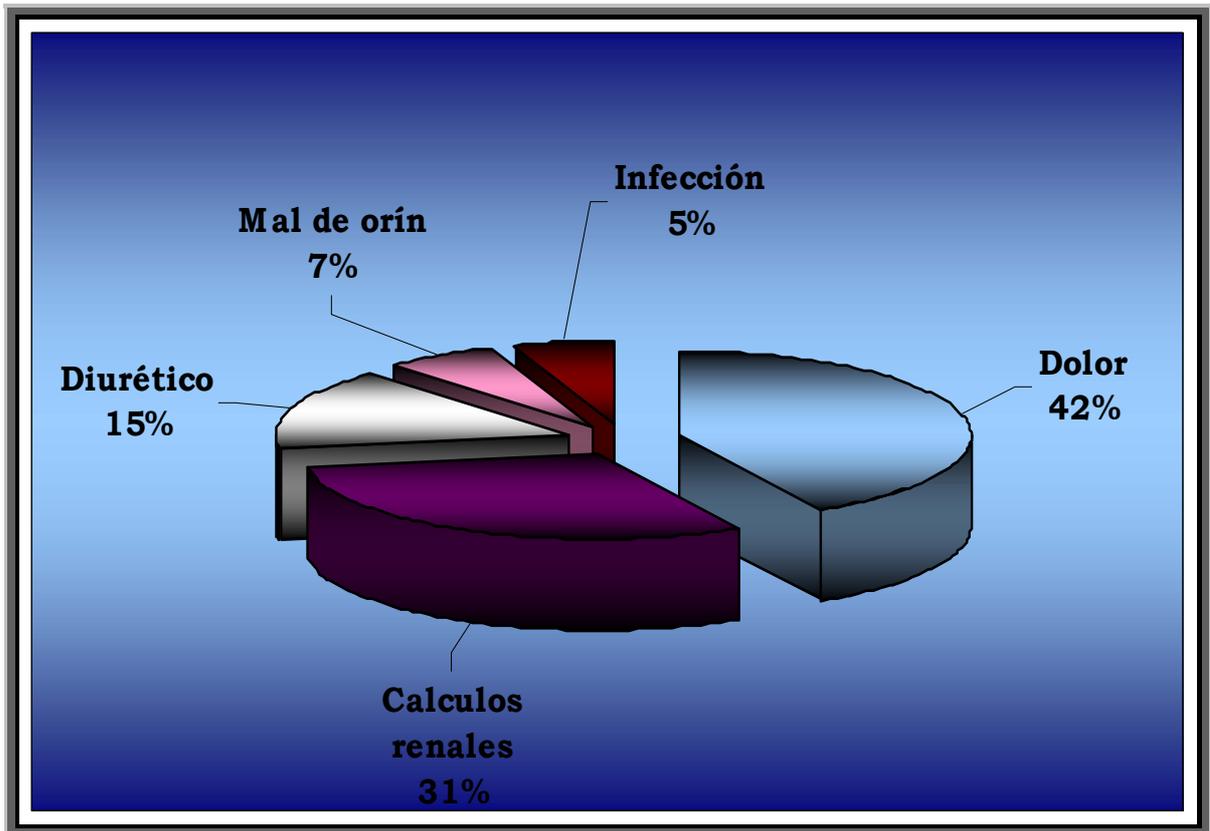
Se aplicaron 100 cuestionarios, entrevistando a las personas de la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, en el municipio de Zempoala, Hidalgo; mostrando un ejemplar de la planta para evitar alguna confusión.

En la figura 7 se muestra que de las personas entrevistadas el 48% conoce la planta y su utilización, pero no la ha empleado (consultante), el 43% corresponde a usuarios de *Eysenhardtia Polystachya Ort Sarg*, el 9% mencionó no conocer la planta.

Con la información obtenida de las personas entrevistadas, exceptuando las que mencionaron no conocer la planta se elaboró la figura 8 que indica los padecimientos para los que se emplea *Eysenhardtia Polystachya Ort Sarg*. Destacando su uso para tratar el dolor de riñón (42%), para cálculos renales (31%), como diurético (15%), contra el mal de orín (7%), en el tratamiento de infecciones (5%).



**Figura 7** Muestra poblacional entrevistada en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, sobre *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg.



**Figura 8** Padecimientos para los que se emplea *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan.

En la tabla 1 se muestra un resumen de los nombres comunes, forma de uso, forma de administración, cantidad empleada, frecuencia de uso y si se utiliza sola o con otras especies vegetales.

Los resultados obtenidos en el estudio etnobotánico corroboran lo encontrado en las fuentes de información bibliográfica; las personas conocen a la planta *Eysenhardtia Polystachya (Ort.) Sarg* como “palo dulce” principalmente, aunque también como “palo azul”.

La forma de uso de la planta es en infusión, por lo que se administra vía oral. La cantidad de la planta utilizada varía de 1 o 2 trozo (rajita) del tallo en un litro de agua y la frecuencia de uso es como agua de tiempo hasta que desaparezca el malestar. El 96% de los entrevistados mencionó que la utiliza sola y no combinada con otras especies vegetales.

**Tabla 1** Información etnobotánica de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan, Zempoala, Hidalgo

|  |   |
|--|---|
| <b>NOMBRE COMÚN</b>                              | palo dulce, palo Azul, hierba de la víbora,   |
| <b>FORMA DE USO</b>                              | Infusión, Decocción, maceración   |
| <b>CANTIDAD EMPLEADA</b>                         | 1 o 2 rajitas de tallo de palo dulce en 1 litro de agua.  |
| <b>VÍA DE ADMINISTRACIÓN</b>                     | Oral  |
| <b>FRECUENCIA DE USO</b>                         | Como agua de tiempo hasta que desaparezca el malestar   |
| <b>SOLA O COMBINADA CON OTRA ESPECIE VEGETAL</b> | EL 96 % de las personas entrevistadas la emplea sola, el resto la combina con otra especie vegetal. |

## 7.2 Análisis fitoquímico preliminar

Los resultados de las pruebas fitoquímicas realizadas tanto al extracto acuoso como al liofilizado se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2** Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg

| <i>Grupo químico</i>     | <i>Extracto acuoso</i> | <i>Liofilizado</i> |
|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Azúcares reductores      | +                      | +                  |
| Taninos                  | +                      | +                  |
| Saponinas                | +                      | +                  |
| Glicósidos cardiotónicos | -                      | -                  |
| Alcaloides               | +                      | +                  |
| Quinonas                 | +                      | +                  |
| Flavonoides              | +                      | +                  |

**+ = indica presencia**

**- = indica ausencia**

### 7.3 Cuantificación de electrolitos en el extracto acuoso y en el liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg

La **tabla 3** presenta las cantidades obtenidas tanto de sodio como de potasio para las dosis de extracto acuoso y liofilizado utilizadas en este estudio.

#### EXTRACTO ACUOSO

| DOSIS     | SODIO<br>(mEq/L) | POTASIO<br>(mEq/L) |
|-----------|------------------|--------------------|
| 500 mg/kg | 41.27            | 164.27             |

#### LIOFILIZADO

| DOSIS     | SODIO<br>(mEq/L) | POTASIO<br>(mEq/L) |
|-----------|------------------|--------------------|
| 100 mg/kg | 45.17            | 174.41             |

#### **7.4 Efecto del extracto acuoso y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre el balance hídrico en la rata**

##### **● Efecto del extracto acuoso y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre el volumen urinario, la depuración osmolal y de agua libre**

Se observó un incremento estadísticamente significativo en el volumen urinario en los grupos tratados con la furosemida, así como con el extracto acuoso y el liofilizado, con respecto al grupo testigo (vehículo), Tabla 4; figura 9.

En cuanto a la depuración osmolal y de agua libre, se observó que los valores obtenidos para los grupos tratados con la furosemida, así como con el extracto acuoso y el liofilizado presentaron un incremento estadísticamente significativo con respecto al grupo testigo, Tabla 4.

##### **● Efecto de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre la osmolalidad sérica, osmolalidad urinaria y relación U/P**

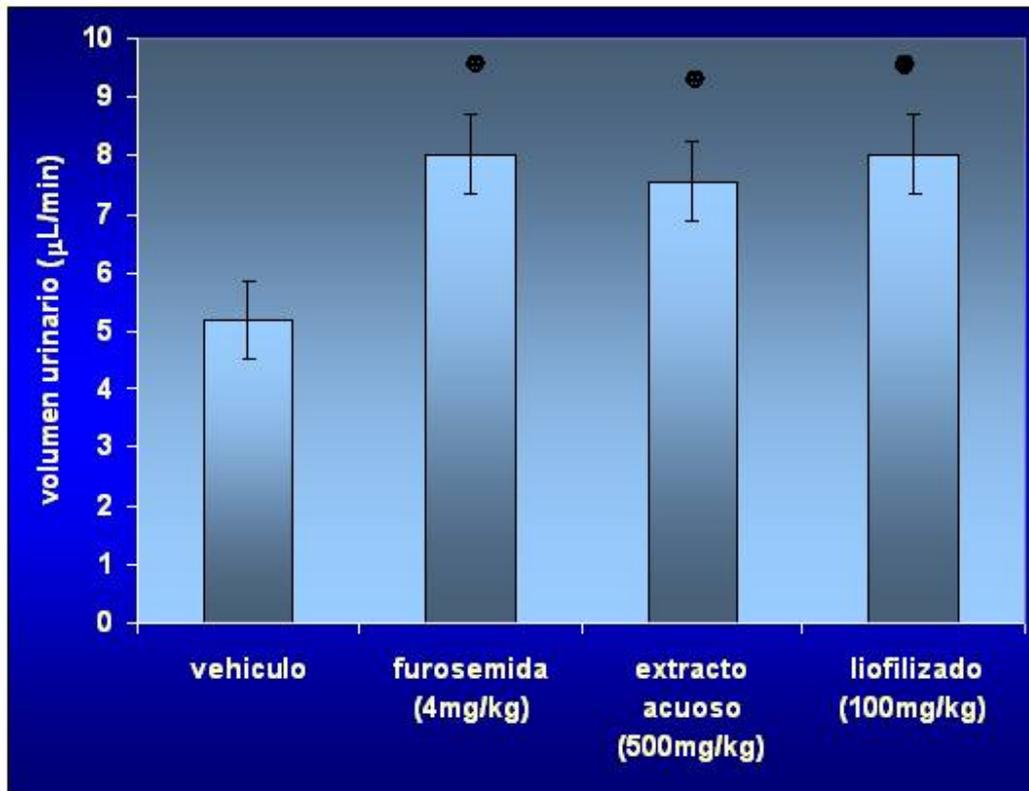
Como se muestra en la tabla 5, no se observaron cambios importantes en la osmolalidad sérica, osmolalidad urinaria y relación U/P entre los diferentes grupos tratados con respecto al testigo, es decir no existe diferencia estadísticamente significativa entre estas variables.

**Tabla 4.** Efecto del extracto acuoso y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) *Sarg* sobre el volumen urinario, la depuración osmolal y de agua libre en la rata.

| Tratamiento                   | Volumen urinario<br>( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) | Depuración osmolal<br>( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) | Depuración de agua<br>libre ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) |
|-------------------------------|--|--|--|
| Vehículo                      | $5.22 \pm 0.36$<br>(12)                          | $21.72 \pm 1.02$<br>(12)                           | $- 16..51 \pm 1.09$<br>(12)                              |
| Furosemida<br>(4mg/kg)        | $8.25 \pm 0.5^*$<br>(12)                         | $31.10 \pm 1.96^*$<br>(12)                         | $- 22.76 \pm 1.58^*$<br>(12)                             |
| Extracto acuoso<br>(500mg/kg) | $7.55 \pm 0.72^*$<br>(10)                        | $31.14 \pm 2.78^*$<br>(10)                         | $- 23.58 \pm 2.50^*$<br>(10)                             |
| Liofilizado<br>(100mg/kg)     | $8.02 \pm 0.69^*$<br>(10)                        | $31.59 \pm 1.99^*$<br>(10)                         | $- 23.53 \pm 1.50^*$<br>(10)                             |

Se muestra la media  $\pm$  el error estándar. ( ) = número de animales.

\* indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .



**Figura 9.** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg sobre el volumen urinario en la rata

Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM).

● indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .

**Tabla 5.** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre la osmolalidad sérica, osmolalidad urinaria y relación U/P en la rata

| Tratamiento                | Osmolalidad sérica (mOsm/kg) | Osmolalidad urinaria (mOsm/kg) | Relación U/P        |
|----------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| Vehículo                   | 291.16 ± 2.71<br>(12)        | 1278.69 ± 73.02<br>(12)        | 4.16 ± 0.30<br>(12) |
| Furosemida (4mg/kg)        | 293.08 ± 1.82<br>(12)        | 1107.94 ± 41.34<br>(12)        | 3.83 ± 0.13<br>(12) |
| Extracto acuoso (500mg/kg) | 292.75 ± 3.55<br>(10)        | 1238.15 ± 92.38<br>(10)        | 4.25 ± 0.35<br>(10) |
| Liofilizado (100mg/kg)     | 285.47 ± 2.51<br>(10)        | 1133.51 ± 44.74<br>(10)        | 3.96 ± 0.14<br>(10) |

Se muestra la media ± el error estándar. ( ) = número de animales.

\* indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con p<0.05.

### **7.5 efecto del Extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg sobre el balance electrolítico en rata**

#### **● Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. sobre las concentraciones de sodio y potasio sérico**

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las concentraciones de sodio y potasio sérico entre los diferentes grupos con respecto al grupo testigo, ver tabla 6

#### **● Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. sobre las excreciones urinarias de sodio y potasio**

Como se observa en la figura 10 y en la tabla 6, la excreción urinaria de sodio se vió incrementada en todos los grupos tratados con respecto al grupo testigo, siendo estadísticamente significativo para el grupo tratado con furosemida y el liofilizado. Para el grupo tratado con el extracto acuoso la diferencia no fue estadísticamente significativa.

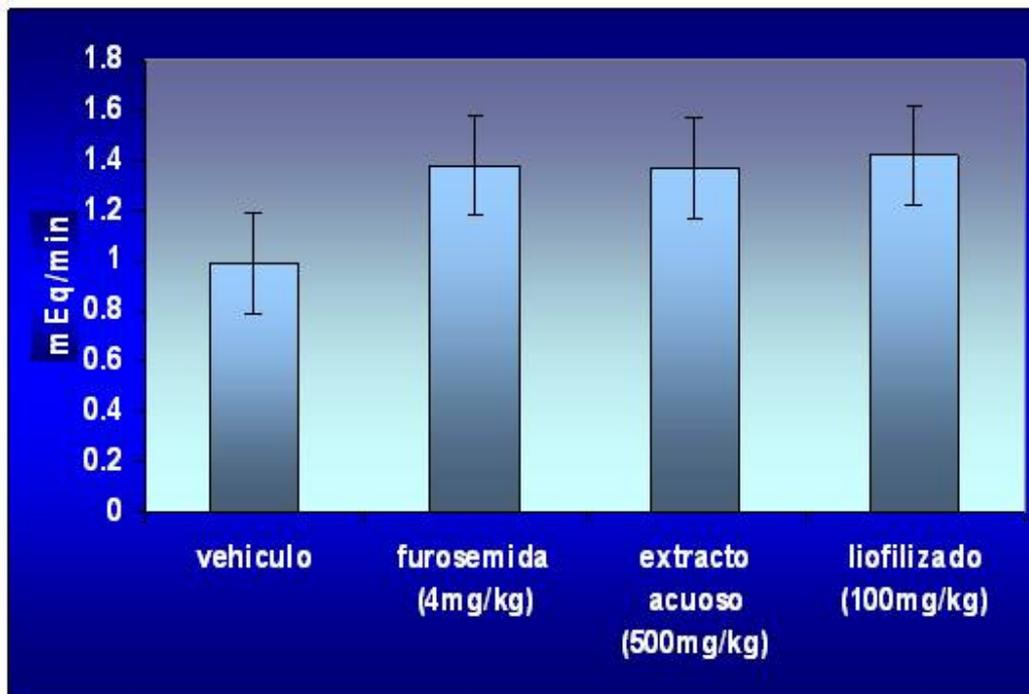
De la misma manera, la excreción urinaria de potasio se vió incrementada en todos los grupos tratados, encontrando diferencia estadísticamente significativa en los diferentes tratamientos con respecto al grupo testigo figura 11.

**Tabla 6** Efecto del extracto acuoso y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre las concentraciones séricas y las excreciones urinarias de sodio y potasio en la rata

| Tratamiento                   | Sodio sérico<br>(mEq/L) | Potasio sérico<br>(mEq/L) | Excreción urinaria<br>de sodio<br>(mEq/min) | Excreción urinaria<br>de potasio<br>(mEq/min) |
|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|---|---|
| Vehículo                      | 150.26 ± 5.14<br>(12)   | 5.20 ± 0.51<br>(12)       | 0.99 ± 0.06<br>(12)                         | 0.91 ± 0.06<br>(12)                           |
| Furosemida<br>(4mg/kg)        | 168.05 ± 3.30<br>(12)   | 5.21 ± 0.30<br>(12)       | 1.54 ± 0.13*<br>(12)                        | 1.41 ± 0.08*<br>(12)                          |
| Extracto acuoso<br>(500mg/kg) | 166.34 ± 2.59<br>(10)   | 5.27 ± 0.35<br>(10)       | 1.37 ± 0.13<br>(10)                         | 1.37 ± 0.14*<br>(10)                          |
| Liofilizado<br>(100mg/kg)     | 164.43 ± 7.86<br>(10)   | 4.76 ± 0.44<br>(10)       | 1.48 ± 0.08*<br>(10)                        | 1.43 ± 0.08*<br>(10)                          |

Se muestra la media ± el error estándar. ( ) = número de animales.

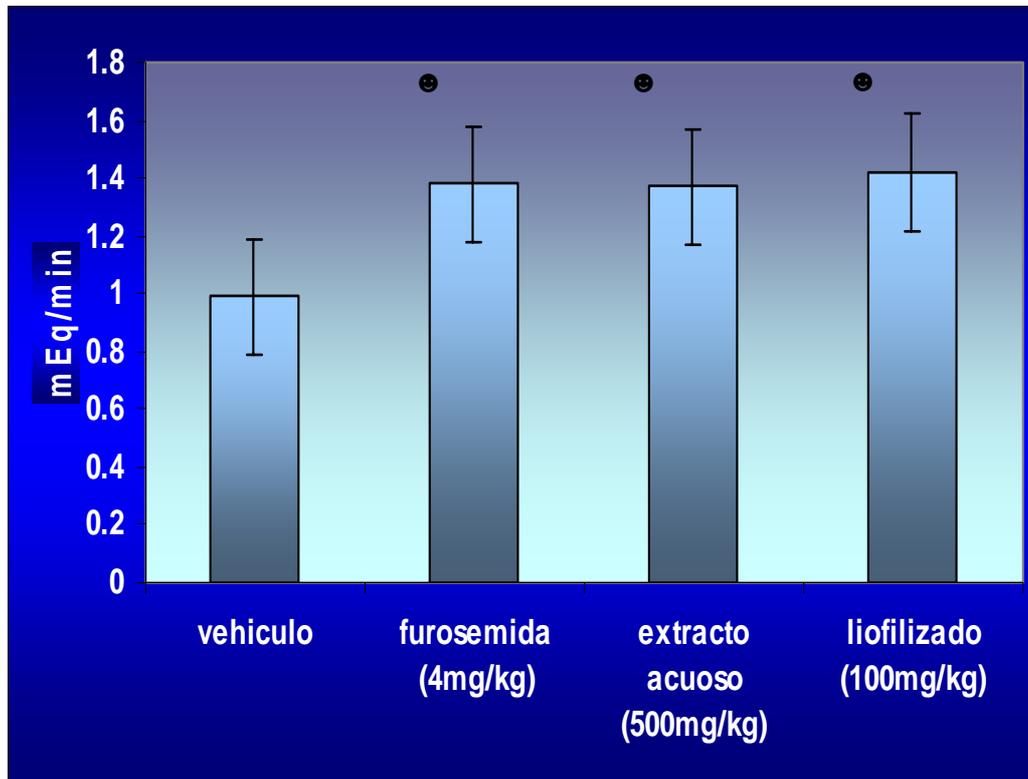
\* indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .



**Figura 10.** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. Sobre la excreción urinaria de sodio en la rata

Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM).

● indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .



**Figura 11.** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre la excreción urinaria de potasio en la rata

Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM).

⊙ indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .

● **Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. sobre las depuraciones de sodio y potasio**

Se observó un incremento en las depuraciones de sodio y potasio en todos los grupos tratados con respecto al grupo testigo. En el caso de la depuración de sodio no se presentó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados con respecto al grupo testigo. Así también se observó que el incremento en la depuración de sodio en el grupo tratado con el extracto acuoso (500mg/kg) es menor al presentado por el grupo tratado con furosemida. Tabla 7

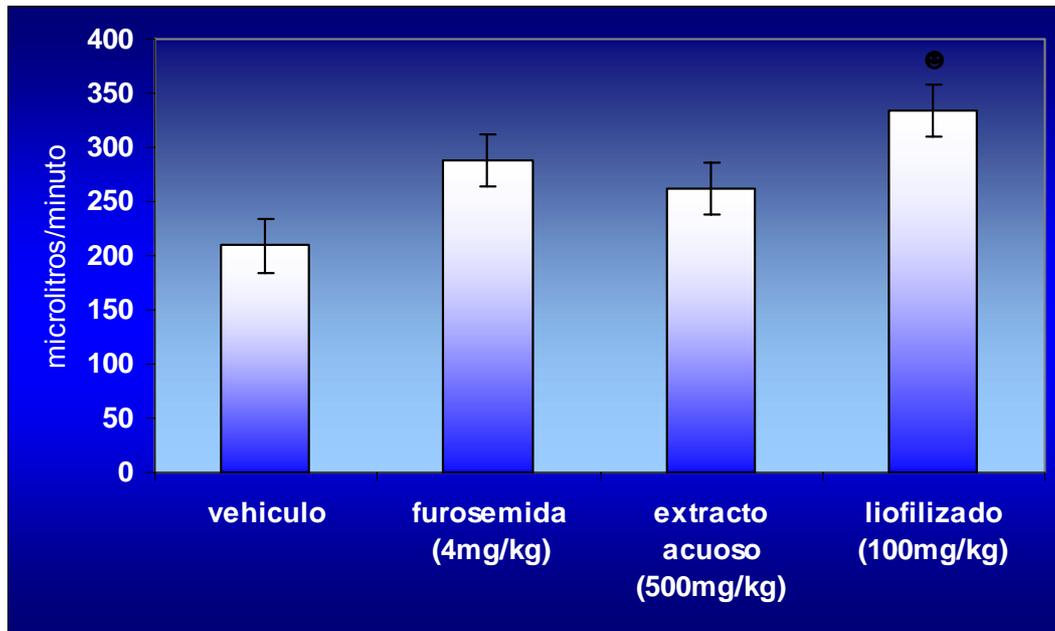
Para el caso de la depuración de potasio, se observó un incremento estadísticamente significativo con el liofilizado (100 mg/kg) con respecto al grupo testigo ( $p < 0.05$ ); además, el grupo tratado con el extracto acuoso presentó una depuración de potasio menor que el grupo tratado con furosemida, figura 12

**Tabla 7** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) *Sarg.* sobre las depuraciones sodio y potasio en la rata

| Tratamiento                   | Depuración de sodio<br>( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) | Depuración de potasio<br>( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) |
|-------------------------------|---|---|
| Vehículo                      | $6.78 \pm 0.57$<br>(12)                             | $196.66 \pm 24.64$<br>(12)                            |
| Furosemida<br>(4mg/kg)        | $9.23 \pm 0.82$<br>(12)                             | $280.78 \pm 21.21$<br>(12)                            |
| Extracto acuoso<br>(500mg/kg) | $8.28 \pm 0.74$<br>(10)                             | $261.56 \pm 21.60$<br>(10)                            |
| Liofilizado<br>(100mg/kg)     | $9.41 \pm 1.03$<br>(10)                             | $337.47 \pm 43.33^*$<br>(10)                          |

Se muestra la media  $\pm$  el error estándar. ( ) = número de animales.

\* indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .



**Figura 12** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. sobre las depuración de potasio en la rata

Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM).

● indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .

### **7.5 Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. sobre las depuración de potasio en la rata**

#### **● Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de palo dulce sobre la depuración de creatinina**

La depuración de creatinina no se modificó por los diferentes tratamientos administrados, aunque se observó un incremento en los grupos tratados con respecto al grupo testigo, ninguno de los tratamientos alcanzó diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ), Tabla 8

#### **● Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de palo dulce sobre las excreciones fraccionales de sodio y potasio**

Como se observó en la tabla 8, la excreción fraccional de sodio en los grupos tratados con la furosemida, así como con el extracto acuoso y el liofilizado se ve incrementada, sin que este incremento sea estadísticamente significativo con respecto al grupo testigo (vehículo).

La excreción fraccional de potasio se vió incrementada en todos los grupos tratados con respecto al grupo testigo, observándose un incremento más marcado con el liofilizado a la dosis de 100 mg/kg ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 8** Efecto del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. sobre las excreciones fraccionales de sodio y potasio en la rata

| Tratamiento                   | Depuración de Creatinina (mL/min) | Excreción Fraccional de Sodio | Excreción Fraccional de Potasio |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Vehículo                      | 3.51 ± 0.65<br>(12)               | 0.191 ± 0.034<br>(12)         | 5.60 ± 1.09<br>(12)             |
| Furosemida<br>(4mg/kg)        | 4.09 ± 0.52<br>(12)               | 0.224 ± 0.038<br>(12)         | 7.02 ± 0.95<br>(12)             |
| Extracto acuoso<br>(500mg/kg) | 4.22 ± 0.97<br>(10)               | 0.196 ± 0.089<br>(10)         | 6.19 ± 1.80<br>(10)             |
| Liofilizado<br>(100mg/kg)     | 4.77 ± 0.46<br>(10)               | 0.197 ± 0.034<br>(10)         | 7.07 ± 1.24<br>(10)             |

Se muestra la media ± el error estándar. ( ) = número de animales.

\* indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (vehículo), con  $p < 0.05$ .



# Discusión



## DISCUSIÓN

En México, las plantas medicinales forman parte esencial de las estrategias generadas por la población para enfrentar sus enfermedades cotidianas. Esta presencia relevante, se da en nuestro país no solamente en el medio indígena y el rural, sino también en zonas urbanas y suburbanas, como resultado de la considerable diversidad biológica del país, de la naturaleza pluriétnica de su población y de la necesidad de recursos accesibles frente a muy diversos padecimientos. Lo que hace de las plantas no sólo un recurso natural sino parte de la historia y presente de un país y un importante segmento de la cultura médica tradicional preservado a través de generaciones, que en algunos grupos de la población continua siendo el único recurso para el tratamiento de las enfermedades.

Debido a lo anterior, el presente estudio se diseñó para contribuir a la recuperación de la información de una especie con uso medicinal, a través de un estudio etnobotánico realizado en la comunidad de San Pedro Tlaquilpan perteneciente al municipio de Zempoala en el estado de Hidalgo sobre la planta *Eysenhardtia polystachya* (Ort.)Sarg; popularmente llamada palo dulce, a la cual se le atribuyen propiedades diuréticas

La metodología empleada se realizó acorde a lo propuesto por Alexiades y Hernández-Xolocotzi (18,19), ésta nos permitió recabar la información acerca de la planta en estudio por medio de la revisión de fuentes bibliográficas y así también nos permitió conocer la información actual que se tiene en la región de estudio por medio del trabajo de campo.

La comunidad de San Pedro Tlaquilpan del municipio de Zempoala, Hidalgo fue seleccionada para llevar a cabo este estudio debido a la posibilidad de acopio de la planta en estudio y a que se tiene un fácil acceso a la región.

Las personas entrevistadas, exceptuando a las que dijeron no conocer la planta, indicaron que los padecimientos para que se emplea *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg; son para combatir el dolor de riñón, para los cálculos renales, como diurético, contra el mal de orín, en el tratamiento de infecciones urinarias, concordando con lo reportado en la literatura (12, 13, 14,21)

De acuerdo a lo encontrado en el estudio etnobotánico y en particular al hecho de que las personas suelen emplear sola a *Eysenhardtia polystachya* (Ort.)Sarg. para tratar sus padecimientos, se requirió realizar un análisis fitoquímico preliminar que permitiera detectar los principales grupos químicos presentes en la planta.

Los resultados obtenidos de este ensayo tanto en el extracto acuoso como en el liofilizado de a *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. muestran la presencia de alcaloides, flavonoides, azúcares reductores, taninos, saponinas y quinonas. Coincidiendo con lo reportado en estudios realizados a *Eysenhardtia*, se han aislado diversos flavonoides (12,22) y se ha demostrado la actividad citotóxica de isoflavonas (24) y el efecto de isoflavonas sobre el crecimiento de cristales de oxalato y fosfato de calcio urinario (25).

Se ha sugerido que flavonoides, saponinas, ácidos orgánicos, alcaloides son los responsables del efecto diurético en plantas medicinales (42, 44)

El análisis fitoquímico preliminar reveló que flavonoides y alcaloides son constituyentes del extracto y liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. los cuales podrían estar actuando individualmente o mediante un efecto acumulativo de varias sustancias que inducen el efecto diurético (44, 49)

Para evaluar la actividad diurética del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. se utilizó el método utilizado por Meléndez y colaboradores (16,38).

Existen otros métodos que fueron empleados para evaluar la actividad diurética de una planta medicinal difiriendo en algunos aspectos, algunos utilizaron ratas hembra como animales de experimentación al igual que en este estudio(16,39), otros utilizaron ratas macho (40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51) en otros se utilizaron ambos géneros (52,53).

Se encontró diferencia en la forma de obtención de orina: algunos utilizan jaulas metabólicas como en este caso y en otros estudios (41, 42, 43, 44, 45, 47, 49, 50, 51, 52, 53), en el estudio de Nedi et al., se realizan adaptaciones para recolectar la muestra (48) mientras que otros hacen uso de catéteres colocados en la vejiga del animal (8, 40)

Otra diferencia encontrada es la vía de administración, algunos como en este estudio utilizaron la vía oral (42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 52, 53) Agunu et al., utilizaron la vía intraperitoneal (50), mientras que otros utilizaron la vía intravenosa (40).

En este experimento se utilizaron ratas hembra adultas de la cepa Wistar de  $200 \pm 20$ g por lo que se descarta la influencia del peso y la edad sobre las variables evaluadas, como una posible sobrestimación de la velocidad de filtración glomerular debida a la secreción endógena de creatinina, la cual no se presenta en la rata hembra (38).

Por los resultados obtenidos se observó un incremento en el volumen urinario de todos los grupos tratados, tanto del grupo que recibió el fármaco de referencia (furosemida) como con el extracto acuoso y el liofilizado con respecto al grupo testigo (vehículo). Este efecto ya se ha observado para otras plantas a las cuales se les ha demostrado actividad diurética como son: *Sedum praealtum* DC, *Rosmarinus officinalis* L; *Malva parviflora* L; *Medicago sativa* (39), *Carica papaya* (41), *Spergularia purpurea* (42), *Spilanthes acmella* (49), *Steganotaenia araliacea hochst* (apiace) (50), *Artemisa thuscala* (51), entre otras.

No se observaron cambios en las osmolalidades séricas en ninguno de los grupos tratados con respecto al grupo testigo, lo que sugiere que el efecto no es sistémico sino a nivel de la nefrona (38).

La velocidad de filtración glomerular (VFG) se estimó por la medición de la depuración de creatinina endógena. Lo que permite observar los efectos de los tratamientos aplicados y permite evitar los efectos hemodinámicos de los anestésicos así, como el stress de procedimientos quirúrgicos que se exigen para utilizar otros marcadores como la inulina (38,54). La depuración de creatinina es una adecuada medida de la función glomerular en animales concientes y sanos (54)

Las excreciones urinarias de sodio y potasio se incrementaron para todos los grupos tratados con respecto al grupo testigo, siendo este incremento significativo para el liofilizado en ambas y para el extracto acuoso sólo en la excreción de potasio.

Las depuraciones de sodio y potasio también se incrementaron con respecto al grupo testigo, sin embargo, este incremento solo fue significativo en el grupo tratado con el liofilizado sobre la depuración de potasio, por lo que estas observaciones sugieren que el extracto acuoso y liofilizado no actúan como ahorradores de potasio (43, 49), tanto el extracto acuoso como el liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. produjeron un incremento en el volumen urinario con una intensidad similar a la furosemida, así como un incremento en la excreción de electrolitos, siendo más evidente con la excreción de potasio, lo que infiere que posean un mecanismo de acción de manera similar a un diurético de asa (49). Los resultados nos permiten conocer que el efecto diurético no se debe a cambios hemodinámicos, ya que la velocidad de filtración glomerular no se modificó en ninguno de los grupos con respecto al grupo testigo.

Con la metodología utilizada no se puede determinar cual es el sitio y mecanismo de acción del extracto acuoso y del liofilizado de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg., sin embargo es posible que como con el extracto de *Spergularia purpurea*, así como el de *Artemisia thuscala* su actividad diurética se deba a la inhibición de la reabsorción tubular de agua y sodio, ( 42, 51) y donde no se debe descartar el rol o la influencia de componentes polares, como los flavonoides presentes en esta planta.

Los resultados de esta investigación avalan el uso de de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg en la medicina tradicional como diurético, sin embargo, se requiere la realización de estudios que permitan determinar el mecanismo preciso por el cual el extracto acuoso y liofilizado afectan la diuresis y la excreción urinaria de electrolitos, así también para aislar a los componentes activos responsables de esta actividad.



# Conclusión



## CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados del estudio etnobotánico *Eysenhardtia polystachya (Ort.)Sarg.* es una planta medicinal conocida como palo dulce o palo azul principalmente, es utilizada para tratar padecimientos renales, su forma de uso es en infusión o decocción y las personas la utilizan como agua de tiempo hasta que desaparece el malestar.
- Tanto el extracto acuoso como el liofilizado de *Eysenhardtia polystachya (Ort.)Sarg.* indujeron un aumento en el volumen urinario con respecto al grupo testigo.
- El extracto acuoso y el liofilizado de *Eysenhardtia polystachya (Ort.)Sarg.* presentaron efectos diuréticos, natriuréticos y kaliuréticos.
- La velocidad de filtración glomerular (VFG) no se modificó en ninguno de los grupos tratados, por lo que se sugiere que *Eysenhardtia polystachya (Ort.)Sarg.* ejerce un efecto tubular directo.
- La actividad diurética de *Eysenhardtia polystachya (Ort.)Sarg.* puede ser atribuida a la presencia de flavonoides presentes tanto en el extracto acuoso como en el liofilizado.
- Se encontró congruencia entre los resultados del estudio etnobotánico y el farmacológico, con los cuales se puede apoyar el empleo de la planta como diurético.
- *Eysenhardtia polystachya (Ort.)Sarg.* puede ser una alternativa para obtener algún principio activo de origen natural que se pueda utilizar para tratar padecimientos renales.



# Bibliografía



**BIBLIOGRAFÍA**

- 1) Cortez G, Macedo, J.P, Hernandez, AM, Arteaga AG, Espinosa, GD, Rodríguez, JF. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. Rev Biomed. 15:123-136, 2004.
- 2) Lewis, WH. Medical Botany: plants affecting human health. Second edition. New Jersey: Ed. John Wiley & Sons.Inc; 2003.
- 3) Gilani A, Atta-ur-Rahman. Trends in ethnopharmacology. J Ethnopharmacol. 100:43-49, 2005.
- 4) Bermúdez A, Oliveira M, Velásquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia. 30(8):453-459, 2005.
- 5) Calixto J. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a personal view. J Ethnopharmacol. 100:131-134, 2005.
- 6) Isnard BC, Deray G, Baumelo A, Le Quintrec M, Vanherweghem JL. Herbs and the Kidney. Am J Kidney Dis. 44(1):1-11, 2004.
- 7) Romero O, Reyes H, Torres I, Herrera A, Tortoriello J. Conocimiento sobre fitofármacos en médicos de atención primaria del estado de Morelos. Rev Med IMSS. 43(4):281-286, 2005.
- 8) Maghrani M, Zeggwaghn NA, Haloui M, Eddouks M. Acute diuretic effect of aqueous extract of *Retama Retaem* in normal rats. J Ethnopharmacol. 99:31-35, 2005.
- 9) Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. México; 2001.
- 10) Abu-Rabia, Aref. Urinary diseases and ethnobotany among pastoral nomads in the Middle East. J Ethnobiol Ethnomedicine. 1:1-4, 2005.
- 11) World Health Organization. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, Geneva:WHO; 2000.
- 12) Argueta V, Cano LM, Rodarte ME, Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Primera edición. México: Instituto Nacional Indigenista; 1994.
- 13) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. México; 2002.
- 14) Pérez BE, Villavicencio MA, Ramírez A. Lista de las plantas útiles de Hidalgo. Pachuca, México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2005.
- 15) Organización Mundial de la Salud. Guías para el asesoramiento y la regulación de las medicinas tradicionales. Ginebra:OMS; 1992.

- 16) Meléndez E, Berdeja B, Miranda G. Diuretic effect of the aqueous extract of *Bidens Odorata* in the rat. *J Ethnopharmacol.* 95:363 -366, 2004.
- 17) Villavicencio MA., Pérez BE, Ramírez A. Plantas útiles del estado de Hidalgo II. Pachuca, México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2002.
- 18) Alexiades M. Selected Guidelines for Ethnobotanical Research: a Field Manual. New York Botanical Garden, 1996. p. 306.
- 19) Hernández-Xolocotzi E. Exploración Etnobotánica y su Metodología. *Revista Geografica Agrícola Xolocotzia.* 1:163-168, 1985
- 20) Alexiades M. Collecting Ethnobotanical Data: An Introduction to Basic Concepts and Techniques. En Alexiades M(Ed.) Selected Guidelines for Ethnobotanical Research: a Field Manual. New York, New York Botanical Garden, USA. 1996. p. 53-94.
- 21) [www.semarnat.mx/gob](http://www.semarnat.mx/gob)
- 22) Burns D, Dalgarno B, Gargan P, Grimshaw J. An isoflavone and a coumestan from *Eysenhardtia polystachya*-Roberts Boyle's fluorescent acid-base indicator. *Phytochemistry.* 23(1):167-169, 1984.
- 23) Martínez M. Las plantas medicinales de México. México:Editorial botas; sexta edición. 1996. p.469.
- 24) Alvarez L, Delgado G. C- and O- Glycosil- $\alpha$ -hydroxydyhydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry.* 50:681-687, 1999
- 25) Pérez RM, Vargas R, García LM, Dávila L. efecto de isoflavonas aisladas de *Eysenhardtia polystachya* sobre el crecimiento de cristales de oxalato y fosfato de calcio urinario. *Bol Coleg Mex Urol.* 17(3):135-139, 2002.
- 26) Delgado C. Fármacos diuréticos En: Lorenzo P, Moreno A, Leza JC, Lizasoain I, Moro MA, editores. Velásquez Farmacología básica y clínica. España:Editorial médica Panamericana; 2005. p.413-423.
- 27) Jackson E K. Diuréticos. En: Hardman JG, Limbird LE, Goodman, GA, editores. Goodman & Gilman's Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. New York,USA: Mc GrawHill; 2001. p.755-788.
- 28) Harlan IE, Warnock D. Diuréticos En: Katzung B. Editor. Farmacología básica y clínica. México:El Manual Moderno; 2005. p.283-305.
- 29) Krakoff LR. Diuretics for Hypertension. *Circulation.* 112:127-129, 2005.
- 30) Rhoades RA., Tanner GA. Función Renal En: Rhoades RA, Tanner GA, Editores. Fisiología Médica. Barcelona, España: Masson-little, Brown; 1997; p.487-518.
- 31) Traub SL. The Kidneys En: ASHP. Editor. Basic skills in interpreting laboratory data. Bethesda, USA: ASHP. 1996; p.131 -157.

- 32) Comstock TJ. Assessment of Renal Function En: Dipiro J T, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. Editores. Pharmacotherapy a pathophysiologic approach. New York, USA: McGrawHill. 1999; p.686 – 705.
- 33) Ateshkadi A, Welter MA. Electrolytes, other minerals, and trace elements En: ASHP Editor. Basic skills in interpreting laboratory data. Bethesda, USA: ASHP; 1996; p.93 -105.
- 34) Vazquez M, Melendez ME, Arreguin M. Estudio etnobotánico de *selaginella lephidophila hook. Et. Grev) Spring (selaginellaceae-pteridophita)* en San Jose Xicotencatl, Municipio de Huamantla Tlaxcala, Mexico. Polibotánica, 19: 105 – 115, 2005.
- 35) Domínguez X. Métodos de investigación fitoquímica. México: editorial Limusa, 1979 p. 84,97,113,153,165,198,199,203,218.
- 36) Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Technical Specification for the Production, Care and Use of Laboratory Animals. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. 1999.
- 37) Meléndez E, Reyes, J. L., Escalante, B. A., Melendez, M.A. Development of the receptors to prostaglandin E2 in the rat kidney and neonatal renal functions. Dev Pharmacol Ther. 14: 125-134, 1990.
- 38) Meléndez E, Reyes JL, Melendez MA. Effects of furosemide on the renal functions of the unanesthetized newborn rat. Dev Pharmacol Ther. 17:210 -219, 1990.
- 39) Meléndez E., Cooley O., Ramírez M. Evaluation of diuretic activity of six plants used for the treatment of urinary diseases in Mexico. Recent Progress in Medicinal Plants. Vol. 13, Search for Natural Drugs (Govil J.N., Singh V. K. Arunachalam C (eds), 2006, pp.323-336.
- 40) Tahri A, Yamani S, Legssyer A, Aziz M, Mekhfi H, Bnouham M; et al. Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. J Ethnopharmacol. 73:95-100, 2000.
- 41) Sripanidkulchai B, Wongspanich V, Laupattarakassen P, Suwansaksri J, Jirakulsonchok D. Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. J Ethnopharmacol. 75: 185 – 190, 2001.
- 42) Jouad H, Lacaille-Dubois MA, Eddouks M. Chronic diuretic effect of the water extract of *Spergularia purpurea* in normal rats. J Ethnopharmacol. 75: 219 – 223, 2001.
- 43) Kreydiyyeh SI, Usta J. Diuretic effect and mechanism of action of parsley. J Ethnopharmacol. 79: 353–357, 2002.
- 44) Galati EM, Tripodo MM, Trovato A, Miceli N, Monforte MT. Biological effect of *Opuntia ficus indica (L.) Mill. (Cactaceae)* waste matter. J Ethnopharmacol. 79: 17–21, 2002.
- 45) Ganapaty S, Dash GK, Subburaju T, Suresh P. Diuretic, laxative and toxicity studies of *Cocculus hirsutus* aerial parts. Fitoterapia. 73: 28–31, 2002.

- 46) Affone OJ, Orisakwe OE, Dioka CE, Obi E, Ezejiofor T, Asomugha L, et al. Effects of Rinbacin extract on rat kidney. *Biol. Pharm. Bull.* 25:1022–1025, 2002.
- 47) Al-Ali M, Wahbi S, Twaij H, Al-Badr. *Tribulus terrestris*: preliminary study of its diuretic and contractile effects and comparison with *Zea Mays*. *J Ethnopharmacol.* 85: 257-260, 2003.
- 48) Nedi T, Mekonnen N, Urga K. Diuretic effect of the crude extracts of *Carissa edulis* in rats. *J Ethnopharmacol.* 95: 57-61, 2004.
- 49) Ratnasooriya WD, Pieris K, Samaratunga U, Jayakody J. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *J Ethnopharmacol.* 91: 317-320, 2004.
- 50) Agunu A, Abdurahman EM, Andrew GO, Muhammed Z. Diuretic activity of the stem-bark extracts of *Steganotaenia araliacea hochst (apiace)*. *J Ethnopharmacol.* 96: 471-475, 2005.
- 51) Benjumea D, Abdala S, Hernandez-Luis F, Perez-Paz P, Martin-Herrera D. Diuretic activity of *Artemisa thuscala*, an endemic canary species. *J Ethnopharmacol.* 100: 205-209, 2005.
- 52) Bajpai A, Khande Ojha J; Evaluation of the diuretic activity of *Boerhaavia verticillata*. *Pharm. Biology.* 38:258-261, 2000.
- 53) Biswas S, Murugesan T, Maiti K, Ghosh L, Pal M, Saha BP. Study on the diuretic activity of *Strychnos potatorum Linn. Sed* extract in albino rats. *Phytomedicine* 8:469-471, 2001.
- 54) Velazquez D, Xavier H, Batista J, Castro-Chaves C. *Zea Mays* L. Extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Phytomedicine* 12: 363-369, 2005.