



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO EN EL VOLUMEN DE EXCRECIÓN
URINARIA INDUCIDO POR EL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS Y TALLOS DE
Geranium niveum S. Watson EN UN
MODELO MURINO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

P R E S E N T A

I V O N N E T I N O C O B E R N A L



MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Dr. RIVERO CRUZ JOSE FAUSTO

VOCAL: M. en C. RIVERO CRUZ ISABEL DEL CARMEN

SECRETARIO: Dr. CALZADA BERMEJO FERNANDO

1er. SUPLENTE: Dra. FRAGOSO SERRANO MABEL CLARA

2° SUPLENTE: M. en C. MADARIAGA MAZÓN ABRAHAM

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN FARMACOLOGÍA, 2° PISO
CORCE, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI.

ASESOR DEL TEMA: _____

Dr. Fernando Calzada Bermejo

SUSTENTANTE: _____

Ivonne Tinoco Bernal

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme todas las herramientas necesarias para ir formando el comienzo de una vida productiva. Por darme una familia maravillosa y un entorno lleno de personas a las cuales admiro y respeto, mis padres y amigos.

Al Dr. Fernando Calzada por brindarme todo su apoyo durante la realización de la parte experimental y la redacción de este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por mi formación como profesionista.

Al Dr. Robert Bye por haber proporcionado el material vegetal.

Al bioterio del IMSS en especial al M.V.Z Jaime Herrera y al M.V.Z Enrique García por proporcionar los animales requeridos para el ensayo biológico.

Al Dr. José Fausto Rivero y a la M. en C. Isabel Del Carmen Rivero por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A mis padres porque gracias a ellos y a Dios soy lo que soy.

A todos mis amigos del grupo 8 y a los que fueron formando parte de mi vida durante mi formación, por aquellos momentos buenos e inolvidables que pasamos juntos, son de las mejores cosas que me ha dejado la Facultad de Química.

DEDICATORIAS

A mi abuelita Guille, como me gustaría que estuvieras aquí con nosotros y que pudieras ver este logro, nunca olvidaré tus consejos y tus buenas palabras, fuiste una persona muy importante para mí; esto es para ti.

A mis padres Adriana Bernal y Fidel Tinoco por todo el apoyo, esfuerzo, dedicación y cariño que me han dado, por siempre estar pendiente de mí y por ayudarme a concluir una de mis tantas metas en la vida, los amo papas.

A mi hermanito Miguel Ángel y a mis hermanas Viridiana y Berenice, por las tantas peleas habidas y por haber y por soportarme cuando estudiaba, los quiero mucho, gracias por ser parte de mi vida.

A mi abuelita Esperanza, por su apoyo y cariño incondicional.

A mi sobrinita Wendy, por ser una personita que siempre alegra mi corazón.

A todos mis amigos, por creer en mí y siempre estar presentes en mi vida, los quiero mucho.

ÍNDICE	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento y justificación del problema	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo general	2
1.2.2 Objetivos particulares	2
1.3 Hipótesis	3
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Medicina tradicional mexicana	4
2.2 Diuresis y diuréticos	5
2.3 Clasificación de los diuréticos	6
2.3.1 Diuréticos de asa	6
2.3.2 Tiazidas diuréticas	7
2.3.3 Inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica	7
2.3.4 Diuréticos osmóticos	7
2.3.5 Diuréticos ahorradores de potasio	8
2.4 Efectos adversos de los diuréticos	9
2.5 Plantas de México utilizadas como diuréticos	9
2.6 Generalidades de <i>Geranium niveum</i> S. Watson	11
3. MATERIAL Y MÉTODOS	13
3.1 Equipo y material de laboratorio	13
3.2 Reactivos	13
3.3 Material vegetal	14
3.4 Obtención del extracto etanólico y de las fracciones (CH ₂ Cl ₂ , AcOEt y acuosa) de <i>G. niveum</i>	14
3.5 Ensayo biológico: Determinación del aumento en la excreción urinaria en un modelo murino	14
3.5.1 Animales de laboratorio	14
3.5.2 Preparación de la muestra	14
3.5.3 Descripción de la prueba	15
4. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	16
5. CONCLUSIONES	21
6. BIBLIOGRAFÍA	22

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Por ciento
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
AcOEt	Acetato de etilo
BDMTM	Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana
Ca ²⁺	Ion calcio
CE _{max}	Concentración de excreción máxima
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
Cl ⁻	Anión cloruro
Cl ₂	Cloro
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidracilo
E.U	Excreción urinaria
EtOH	Etanol
FHEUM	Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos
g	Gramos
H ⁺	Ion hidrógeno
H ₂ O	Agua
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
H ₂ PO ₄ ⁻	Ion fosfato diácido
HCO ₃ ⁻	Ion bicarbonato
HOCl	Ácido hipocloroso
hr	Hora
K ⁺	Ion potasio
kg	Kilogramo
L	Litros
mg	Miligramo
Mg ²⁺	Ion magnesio
mL	Mililitros
mV	Milivolts
Na ⁺	Ion sodio
¹ O ₂	Oxígeno singulete
O ₂ ⁻	Anión superóxido

OH⁻

Radical hidroxilo

pH

Potencial de hidrógeno

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINAS
Figura 1. <i>Geranium niveum</i> S. Watson	12

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	PÁGINAS
Gráfica 1. Determinación del efecto diurético inducido por el extracto etanólico.	17
Gráfica 2. Determinación del efecto diurético inducido por el β -sitosterol.	19
Gráfica 3. Comparación del efecto en el volumen de orina inducido por el β -sitosterol y la furosemida.	19

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINAS
Tabla 1. Porcentaje del aumento en el volumen de orina inducido por el extracto etanólico y la furosemida después de 4 horas.	16
Tabla 2. Porcentaje del aumento en el volumen de orina inducido por la fracción acuosa, fracciones orgánicas (CH_2Cl_2 , AcOEt), y la furosemida después de 4 horas.	17
Tabla 3. Porcentaje del aumento en el volumen de orina inducido por la furosemida y el β -sitosterol después de 4 horas.	18
Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos evaluados a la orina excretada después de 4 horas	20

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento y justificación del problema

En la medicina tradicional mexicana se utilizan muchas plantas para tratar problemas renales que incluyen: dolor de riñón, ardor al orinar, mal de orín, cálculos renales, diuréticos, infección en vías urinarias, entre otros. Una de estas plantas es *Geranium niveum* S. Watson, especie que pertenece a la familia Geraniaceae y es conocida popularmente por los Tarahumaras con el nombre de “makiki”.

La especie *G. niveum* ha sido objeto de dos estudios uno químico y otro de tipo farmacológico. El primer estudio se realizó de manera biodirigida permitiendo el aislamiento de dos flavonoides (reinoutrina e hiperina), cinco proantocianidinas de tipo-A (geranina A, B, C, D y mahuanina) y un compuesto fenólico (metil-galato), de los compuestos aislados sólo la geranina A mostró una mayor actividad antiprotozoaria contra *Giardia lamblia* (CI₅₀ 2.4 µg/mL), mientras que la geranina D mostró una mayor actividad contra *Entamoeba histolytica* (CI₅₀ 28.6 µg/mL). El segundo estudio permitió establecer el potencial antioxidante de las geraninas A y D, utilizando siete diferentes sistemas de ensayo: ABTS, DPPH, O₂⁻, H₂O₂, OH[·], HOCl y ¹O₂, al resveratrol y el ácido ascórbico como controles positivos. Los resultados mostraron que la geranina A, D y el extracto metanol-CHCl₃ fueron capaces de atrapar a los radicales ABTS, DPPH, O₂⁻, OH[·] y HOCl. La capacidad de captación de las geraninas A y D fue similar a la del resveratrol y el ácido ascórbico en los siguientes ensayos: ABTS, O₂⁻ y HOCl. La capacidad de atrapamiento de los controles positivos para DPPH fue mayor que la de ambas geraninas. Por otro lado, la captación de OH[·] fue similar para ambas geraninas y resveratrol. El extracto metanol-CHCl₃ (1:1) tuvo una mayor capacidad para atrapar a los radicales ABTS, DPPH y O₂⁻ que el extracto clorofórmico. A su vez, este último fue más potente que el extracto de metanol-CHCl₃ con OH[·] y HOCl. Las geraninas A y D y el extracto no fueron capaces de atrapar a los radicales H₂O₂ y ¹O₂ (Maldonado, 2005).

El propósito en este estudio, es conocer si los productos obtenidos a partir de las hojas y tallos de *G. niveum* tienen la capacidad de incrementar el volumen de excreción urinaria en ratones hembra de la cepa CD-1.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general:

- Determinar el efecto sobre la excreción urinaria de los productos obtenidos a partir de las hojas y tallos de *Geranium niveum*. S. Watson en un modelo murino.

1.2.2 Objetivos Particulares:

- Obtener el extracto etanólico a partir de las hojas y tallos de *G. niveum*.
- Determinar el efecto farmacológico del extracto etanólico sobre la excreción urinaria a diferentes dosis.
- Realizar el fraccionamiento preliminar del extracto etanólico de *G. niveum*.
- Determinar el efecto farmacológico sobre la excreción urinaria de las fracciones obtenidas a partir del extracto etanólico de *G. niveum*
- Realizar el aislamiento de al menos un constituyente presente en la fracción orgánica activa.
- Determinar el efecto farmacológico del constituyente aislado sobre la excreción urinaria a diferentes dosis.

1.3 HIPÓTESIS:

En la medicina tradicional mexicana se utiliza la raíz de *Geranium niveum* para tratar dolor de riñón y mal de orín. Si esto es verdad, entonces habrá un aumento en el volumen de excreción urinaria en los animales administrados con los productos obtenidos de *Geranium niveum*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Medicina tradicional mexicana

Las plantas medicinales son el recurso vegetal más amplio y valioso de la medicina indígena tradicional (BDMTM, 2009). En todo el mundo se conocen desde la antigüedad los efectos terapéuticos de las plantas para curar diversos padecimientos.

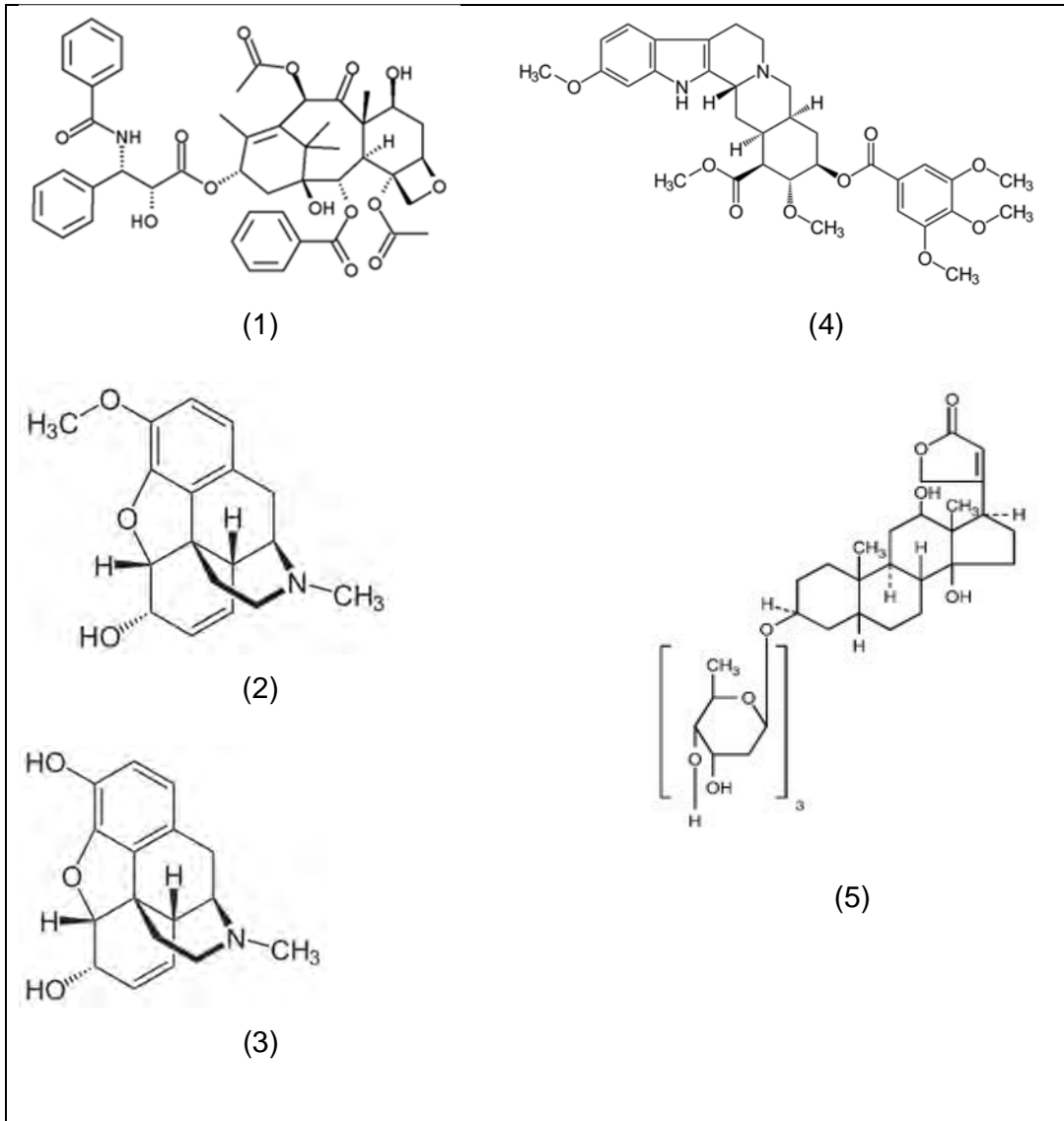
La herbolaria, es la terapéutica más antigua e importante que el hombre ha aprovechado para el tratamiento y control de sus padecimientos, siendo una terapia alternativa (Tlauhi, 2004). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) más del 80% de la población mundial se basa en la medicina tradicional para el cuidado de la salud (Mata, 2000).

En la actualidad, muchas de las plantas medicinales mexicanas forman parte esencial de las estrategias generadas por la población para enfrentar sus enfermedades cotidianas, tanto en el medio indígena y el rural como en las zonas urbanas y suburbanas, como resultado del elevado costo de los medicamentos alopáticos (FHEUM, 2001).

México, cuenta con una amplia riqueza vegetal que lo ubica en un tercer lugar en biodiversidad a nivel mundial, con aproximadamente 26 500 especies, de las cuales alrededor del 15% se les atribuyen propiedades medicinales (Myers, 1998).

Así el interés en el estudio de la herbolaria, en México, es con la finalidad de demostrar su utilidad de forma científica, que guíe su aplicación en la clínica (Tlauhi, 2004). El conocimiento de las propiedades terapéuticas de las plantas son un desafío para la ciencia moderna ya que día con día hay importantes investigaciones clínicas y se descubren o confirman numerosos efectos benéficos, muchos de los cuales ya eran conocidos por las culturas antiguas (Ehmsa, 2011).

El valor medicinal de las plantas se ejemplifica con compuestos que actualmente son usados en la clínica, como son el taxol (1) agente anticancerígeno presente en *Taxus brevifolia* L, la codeína (2) y la morfina (3) analgésicos presentes en *Papaver somniferum* L, la reserpina (4) antihipertensivo presente en *Rauwolfia serpentina* L, la digoxina (5) glicósido cardiotónico presente en *Digitalis purpurea* L, entre otros.



2.2 Diuresis y diuréticos

La diuresis, es un proceso que se caracteriza por un incremento en la excreción de orina debido al consumo o a la administración de sustancias externas, a las cuales se les da el nombre de diuréticos (ADAM, 2011).

Los diuréticos constituyen un grupo de compuestos con acción terapéutica que se utilizan para ajustar el volumen, la composición, o ambos, de los líquidos corporales en situaciones clínicas diversas, entre las que se incluyen: la hipertensión arterial, la insuficiencia cardiaca, la insuficiencia renal, el síndrome nefrótico y la cirrosis (Uriarte, 2003).

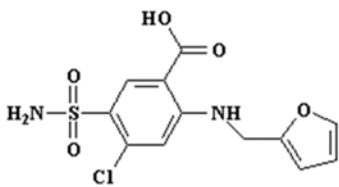
Un diurético es una sustancia que aumenta la tasa de flujo urinario, incrementando la tasa de excreción de los iones Na^+ (natriuresis) y cloruro (Cl^-). El suministro continuo de diuréticos causa una deficiencia neta de ion sodio (Na^+). Los diuréticos no sólo alteran la eliminación de los iones sodio, sino que también modifican la manipulación renal de otros cationes (K^+ , H^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}), aniones (Cl^- , HCO_3^- , H_2PO_4^-) y ácido úrico (Uriarte, 2003).

2.3 Clasificación de los diuréticos

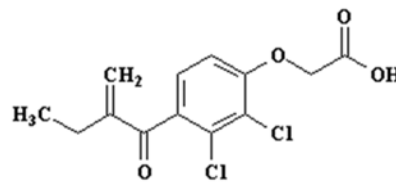
Basándose en su estructura química o bien aspectos de su acción, los diuréticos de uso frecuente se clasifican en compuestos de tipo asa, tiazidas, inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica, diuréticos osmóticos y diuréticos ahorradores de potasio (Ira, 2003).

2.3.1 Diuréticos de asa

Son los diuréticos más potentes, que inhiben hasta un 25% la reabsorción de cloruro de sodio y de agua, son los fármacos que actúan inhibiendo el transporte activo de sodio y de cloro al exterior de la rama ascendente del asa de Henle (Ira, 2003). Ejemplos de estos compuestos son la furosemida (6), la bumetanida, la azosemida, la torasemida, la piretanida y el ácido etacrínico (7) (Uriarte, 2003).



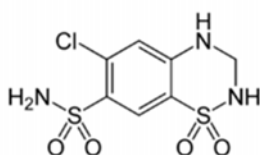
(6) furosemida



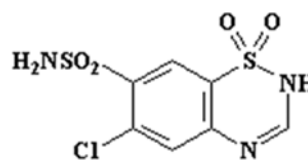
(7) ácido etacrínico

2.3.2 Tiazidas diuréticas

Estos compuestos inhiben hasta en un 8% la reabsorción de sal y de agua a través de la inhibición del transporte de sodio y de cloro en el primer segmento del túbulo contorneado distal (Ira, 2003). Algunos ejemplos de estos diuréticos son la hidroclorotiazida (8), clorotiazida (9), clortalidona, metolazona, e indapamida (Uriarte, 2003).



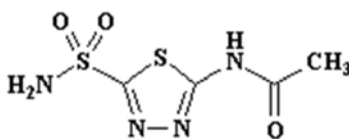
(8) hidroclorotiazida



(9) clorotiazida

2.3.3 Inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica

Son diuréticos mucho más débiles, que actúan fundamentalmente en el túbulo proximal, evitando la reabsorción de agua que tiene lugar cuando se reabsorbe el bicarbonato (Ira, 2003). Un ejemplo de este tipo de diurético es la acetazolamida (10), que inhibe a la enzima anhidrasa carbónica, indispensable para la reabsorción del bicarbonato (Guyton, 2001).

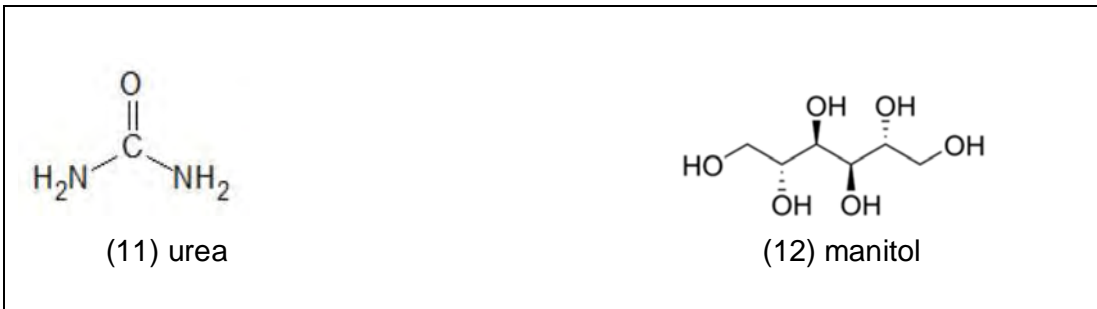


(10) acetazolamida

2.3.4 Diuréticos osmóticos

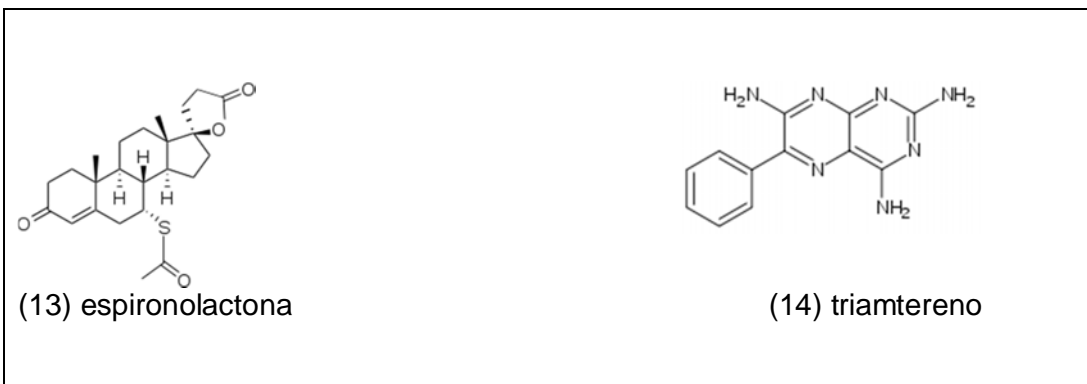
Los diuréticos osmóticos son aquellos que cuando en el filtrado existen solutos adicionales, aumentan la presión osmótica del filtrado y, de esta forma, disminuyen la reabsorción de agua por ósmosis. Estos solutos adicionales actúan, por lo tanto, como diuréticos osmóticos (Ira, 2003). La inyección en el

torrente sanguíneo de sustancias que no se reabsorben fácilmente por los túbulos renales son: la urea (11), el manitol (12) y la sacarosa (producen un notable aumento de la concentración de moléculas o iones osmóticamente activos en los túbulos). La presión osmótica de estos solutos reduce en gran medida la reabsorción de agua, haciendo que pasen a la orina grandes cantidades de líquido tubular (Guyton, 2001).



2.3.5 Diuréticos ahorradores de potasio

Estos diuréticos pueden provocar una excreción excesiva de iones K^+ al filtrado y su eliminación por la orina. Por esta razón, se utilizan a veces diuréticos ahorradores de potasio (Ira, 2003). Estos compuestos compiten con la aldosterona por los receptores de las células epiteliales de los túbulos colectores corticales y, por tanto, se oponen a la reabsorción de sodio y a la secreción de potasio en este segmento tubular. Como consecuencia, el ion sodio permanece en los túbulos y actúa como un diurético osmótico, provocando una excreción mayor de agua y de iones de sodio. Puesto que estos fármacos bloquean también el efecto estimulador de la aldosterona sobre la secreción de iones de potasio hacia los túbulos, reducen igualmente la excreción de dicho ion (Guyton, 2001). Ejemplos selectos de estos fármacos son la espironolactona (13), triamtereno (14) y amilorida.



2.4 Efectos adversos de los diuréticos

Los efectos adversos más comunes que inducen los fármacos diuréticos son: la hipopotasemia, la hipocloremia, la hiponatremia y la alcalosis. También pueden generar efectos menores como alteraciones neuromusculares, respiratorias, circulatorias, gastrointestinales, renales, anemia hemolítica, pancreatitis, ictericia colestásica y trombocitopenia. Los diuréticos tiacídicos y de tipo asa predisponen la aparición de arritmias cardiacas graves en pacientes con hipertrofia ventricular izquierda, insuficiencia cardiaca o cardiopatía isquémica crónica (Velázquez, 2008). La clortalidona induce vértigo, edema pulmonar idiosincrático (trastornos respiratorios); la furosemida llega a producir aumento en la excreción de electrólitos como potasio, calcio y magnesio, deshidratación, hipovolemia, aumento transitorio de niveles en sangre de urea y creatinina; los diuréticos inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica, producen parestesia en cara, manos y pies, cefalea y somnolencia, alteraciones neuromusculares, respiratorias, circulatorias, gastrointestinales, renales, anemia hemolítica, pancreatitis, ictericia colestásica y trombocitopenia (PLM, 2011; Gálvez, 2011).

2.5 Plantas de México utilizadas como diuréticos

En México existe una gran diversidad de plantas empleadas para el tratamiento de diversas enfermedades tales como la diarrea, la diabetes, el cáncer y problemas renales entre otras. Con respecto a esta última propiedad como diuréticos se emplean los ejemplos selectos que se describen a continuación:

- Fruto de tamarindo (*Tamarindus indica* L.), se utiliza como diurético, laxante, para tratar la indigestión y el empacho (Aguilar, 1998; BDMTM, 2009).



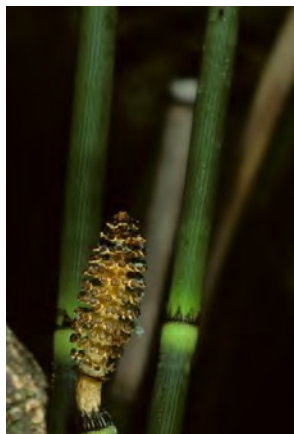
- Hojas de tejocote (*Crataegus mexicana* H.B.K), se utiliza como diurético, y para tratar la tos y el resfriado (Aguilar, 1998; BDMTM, 2009).



- Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), se utiliza como diurético (Aguilar, 1998; BDMTM, 2009).



- Planta cola de caballo (*Equisetum hyemale* L.), se utiliza como diurético y para tratar el dolor de riñón (Aguilar, 1998; BDMTM, 2009)

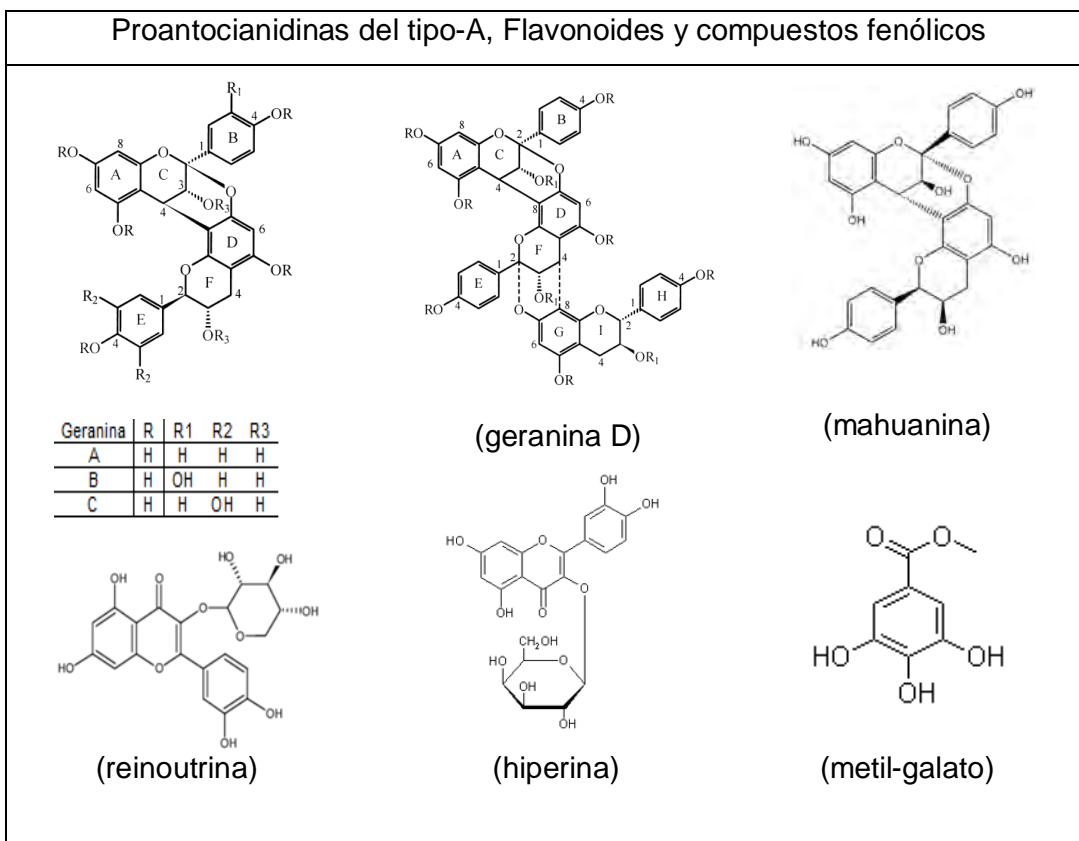


- Doradilla (*Selaginella lepidophylla* Spring.), se utiliza como diurético, para el tratamiento de los cálculos biliares y para el dolor de riñón (Aguilar, 1998; BDMTM, 2009).



2.6 Generalidades de *Geranium niveum* S. Watson (Geraneaceae)

Geranium niveum S. Watson, conocida como “Makiki” es una especie medicinal utilizada por los indios tarahumaras para el tratamiento del dolor de riñón mediante la infusión o decocción de la raíz (BDMTM, 2009), esta es una especie rica en proantocianidinas del tipo-A y otros compuestos de tipo fenólico (Calzada, 1998 y 2001).



G. niveum es una hierba de hojas finas color verde, sus flores son de color morado con picos largos. Florece por el mes de mayo en lugares semicálidos.



Figura 1. *Geranium niveum* S. Watson.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Equipo y material de laboratorio

- Balanza analítica
- Balanza para el pesado de los animales
- Cajas metabólicas
- Cámara de elución
- Columna cromatográfica
- Cromatofolios de Al TLC silica gel 60 F₂₅₄
- Embudo de separación 500 mL
- Embudo de separación de 100 mL
- Espátula
- Frascos viales
- Jeringas de 1 mL
- Jeringas de 3 mL
- Matraces bola de 500 mL
- Matraces erlenmeyer de 50 mL
- Matraz erlenmeyer de 500 mL
- Pinzas metálicas
- Pipeta graduada de 10 mL
- Probeta de 100 mL
- Rotaevaporador
- Sonda esofágica
- Soporte universal

3.2 Reactivos

- AcOEt R.A
- Agua inyectable (Pisa)
- CH₂Cl₂ R.A
- EtOH R.A
- Furosemida (Sigma)

3.3 Material vegetal

Geranium niveum fue recolectada en Bocoyna municipio de Chihuahua el 2 de octubre del 2011. La identificación botánica fue realizada por el Dr. Robert Bye, con el número de colecta R. Bye 36899, y fue depositada en el Herbario Nacional de México en el Instituto de Biología de la UNAM.

3.4 Obtención del extracto etanólico y de las fracciones (CH₂Cl₂, AcOEt y acuosa) de *G. niveum*

Para la obtención del extracto etanólico se maceraron 600 g de las hojas y tallos de la planta seca y molida con 2.5 L de etanol, a temperatura ambiente por una semana en dos ocasiones. El extracto resultante fue filtrado y concentrado a presión reducida, obteniéndose 32.7 g de un residuo color verde.

Para la obtención de las fracciones se pesaron 21 g del extracto etanólico y fueron resuspendidos en 50 mL de etanol acuoso al 10%, esta solución se sometió a un proceso de reparto utilizando CH₂Cl₂ (100 mL x 2) y AcOEt (100 mL x 2): Las fracciones resultantes, fracción acuosa (9.7g), fracción de diclorometano (4.0g) y fracción de acetato de etilo (4.7g), se concentraron a sequedad en un rotaevaporador, y se almacenaron en frascos viales sellados hasta su uso.

3.5 Ensayo biológico: Determinación del aumento en la excreción urinaria en un modelo murino.

3.5.1 Animales de laboratorio

Se utilizaron ratones hembra cepa CD-1 con un peso corporal entre 22-38 g, procedentes del Bioterio del Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS. Todos los animales se mantuvieron a temperatura ambiente con ayuno de 24 horas y agua *ad libitum* como condiciones previas al experimento.

3.5.2 Preparación de la muestra

Se prepararon 6 mL de cada una de las dosis administradas, se pesó la cantidad necesaria de las muestras y/o compuestos para obtener las dosis requeridas, ajustando a un volumen de 1.0 mL por animal.

3.5.3. Descripción de la prueba

El extracto etanólico fue administrado a las dosis de 0.125, 0.5, 1, 3 y 4 g/kg, las fracciones a una dosis de 50 mg/kg de peso, el β -sitosterol a las dosis de 2.5, 5, 10, 25 y 40 mg/kg y el fármaco de referencia (furosemida) a las dosis de 10, 25 y 40 mg/kg.

Para el estudio se emplearon grupos de 6 ratones, a los que se les administró los diferentes tratamientos, al grupo blanco se le administró agua inyectable. Todas las administraciones fueron realizadas por vía oral (p.o.) usando una sonda esofágica.

Posterior a la administración de cada tratamiento, los animales fueron colocados en jaulas metabólicas y se midieron los volúmenes de orina excretados así como el peso de las heces a las 2 y 4 hrs.

Los volúmenes de orina obtenidos para cada tratamiento fueron comparados con respecto al grupo control, el cual fue administrado con la furosemida y con el grupo blanco. Para evaluar el efecto en la excreción urinaria se utilizó la siguiente ecuación:

$$E.U = \frac{\text{Volumen promedio de orina} - \text{Volumen promedio de orina con el agua}}{\text{Volumen promedio de orina con el agua}} \times 100$$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se realizó el estudio fitoquímico biodirigido del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas y tallos de *Geranium niveum*.

En la Tabla 1, 2 y 3 se resumen parte de los resultados obtenidos de la evaluación biológica realizada con el extracto etanólico, fracciones orgánicas y compuesto puro obtenidos de *G. niveum*

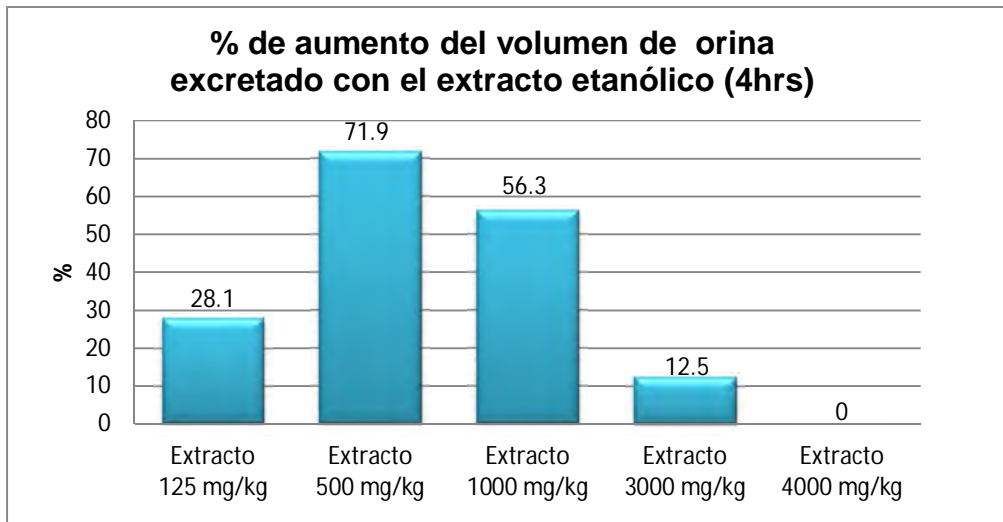
Tabla 1. Porciento del aumento en el volumen de orina inducido por el extracto etanólico y la furosemida después de 4 horas.

Estudio	Dosis	Vol. Promedio de orina por animal (mL) *	% del volumen de orina excretado
Agua	--	0.32	0
Furosemida	10 mg/kg	0.65	103.1
<i>G. niveum</i>	125 mg/kg	0.41	28.1
<i>G. niveum</i>	500 mg/kg	0.55	71.9
<i>G. niveum</i>	1000 mg/kg	0.50	56.3
<i>G. niveum</i>	3000 mg/kg	0.36	12.5
<i>G. niveum</i>	4000 mg/kg	0.18	0

❖ Los resultados se expresan como el valor promedio de una n=6

En la Gráfica 1, se muestra el porcentaje del volumen de orina excretado que indujeron las diferentes dosis administradas del extracto etanólico, en la cual se observó un efecto de tipo hormesis independiente de la dosis administrada, encontrándose el mayor efecto a la dosis de 500 mg/kg (71.9%).

Gráfica 1. Determinación del efecto diurético inducido por el extracto etanólico.



Una vez observado el efecto del extracto se decidió realizar el fraccionamiento biodirigido del mismo.

Como se observa en la Tabla 2 y en la Gráfica 2 de las tres fracciones evaluadas, sólo la fracción de diclorometano presentó un aumento en el volumen de excreción urinaria (37.5%) a la dosis de 50 mg/kg.

Tabla 2. Porcentaje del aumento en el volumen de orina inducido por la fracción acuosa, fracciones orgánicas (CH₂Cl₂, AcOEt), y la furosemda después de 4 horas.

Estudio	Dosis	Vol. Promedio de orina por animal (mL)*	% del volumen de orina excretado
Agua	--	0.32	0
Furosemda	10 mg/kg	0.65	103.1
Fracción de CH ₂ Cl ₂	50 mg/kg	0.44	37.5
Fracción de AcOEt	50 mg/kg	0.04	0
Fracción acuosa	50 mg/kg	0.22	0

❖ Los resultados se expresan como el valor promedio de una n=6

Posteriormente, se realizó el estudio químico de la fracción activa de diclorometano, el cual permitió el aislamiento de 450 mg del β -sitosterol, identificado por comparación de sus constantes físicas y con las de una muestra auténtica.

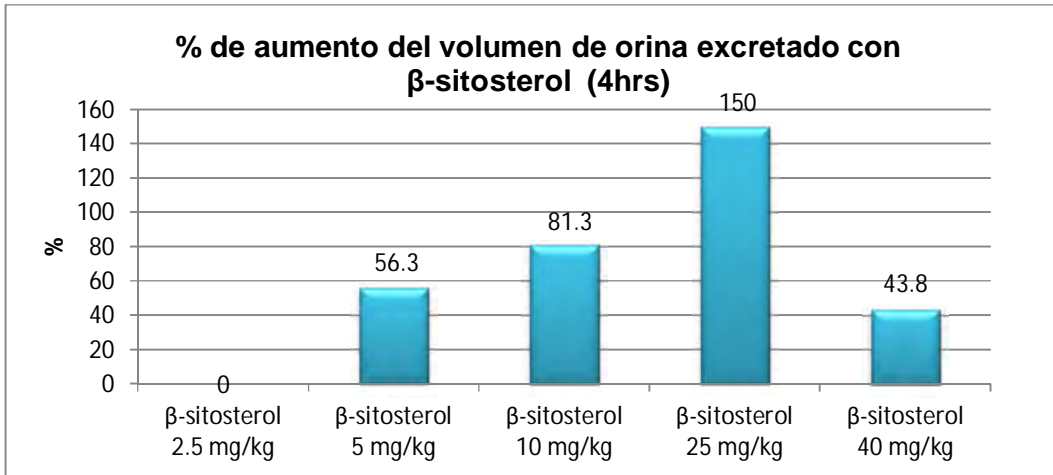
Tabla 3. Porcentaje del aumento en el volumen de orina inducido por la furosemida y el β -sitosterol después de 4 horas.

Estudio	Dosis	Vol. Promedio de orina por animal (mL)*	% del volumen de orina excretado
Agua	--	0.32	0
Furosemida	10 mg/kg	0.65	103.1
Furosemida	25 mg/kg	1.8	462.5
Furosemida	40 mg/kg	1.98	518.8
β -sitosterol	2.5 mg/kg	0.11	0
β -sitosterol	5 mg/kg	0.50	56.3
β -sitosterol	10 mg/kg	0.58	81.3
β -sitosterol	25 mg/kg	0.80	150
β -sitosterol	40 mg/kg	0.46	43.8

❖ Los resultados se expresan como el valor promedio de una n=6

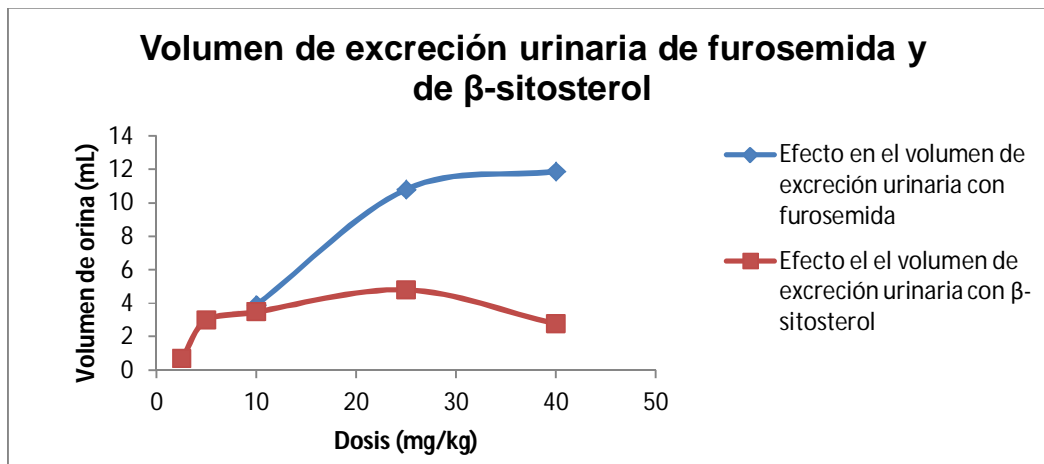
En la Tabla 3 y en la Gráfica 3 se observa que el β -sitosterol, presenta el mismo efecto de hormesis, observado con el extracto etanólico. La mayor actividad se observó a la dosis de 25 mg/kg (150%).

Grafica 2. Determinación del efecto diurético inducido con el β -sitosterol.



Los volúmenes totales de orina obtenidos con el β -sitosterol a 25 mg/kg (4.8 mL) con respecto a los de la furosemida a la misma dosis (10.8 mL) nos indican que el fármaco control presenta una mayor eficacia terapéutica, observándose en la Gráfica 5 que el efecto máximo obtenido con β -sitosterol es de aproximadamente la mitad del que se logra con la furosemida a 25 mg/kg.

Gráfica 3. Comparación del efecto en el volumen de orina inducido por el β -sitosterol y la furosemida.



En la Tabla 4 al observar los valores de densidad obtenidos para el extracto de *G. niveum* se observa que no hay ninguna variación, pero comparado con el agua hay un incremento importante en la densidad lo cual nos indica que el extracto aumenta la salida de solutos. En lo que se refiere al

pH hay una alcalinización lo cual posiblemente indique la falta de excreción de ácido úrico. El análisis comparativo entre el agua y el extracto indica que hay un incremento en la salida de cloruro de sodio. En el caso particular de la fracción de diclorometano los sólidos se incrementaron aun más, así mismo comparado con el agua y la furosemida se observa un incremento en el valor de pH que esta asociado a la falta de excreción de ácido úrico, también se observa que no hubo un incremento de la salida de electrolitos. En el caso del β -sitosterol se observó un incremento en la densidad, en el valor de pH y en la cantidad de cloruro de sodio excretado dependiente de la dosis, y se sigue observando una alcalinización asociada a la disminución de excreción de ácido úrico.

Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos evaluados a la orina excretada después de 4 horas.

Estudio	Densidad (g/mL)	pH	Equivalentes
			Concentración NaCl (mg/mL)
Agua	0.89	5.8	4.09
Furosemida 10 mg/kg	0.91	6.0	9.34
<i>G. niveum</i> 125 mg/kg	0.95	6.17	14.6
<i>G. niveum</i> 500 mg/kg	0.99	5.83	15.84
<i>G. niveum</i> 1000 mg/kg	0.99	6.23	16.35
<i>G. niveum</i> 3000 mg/kg	0.94	6.57	24.53
<i>G. niveum</i> 4000 mg/kg	0.91	6.17	14.6
Fracción de CH ₂ Cl ₂ 50 mg/kg	1.03	6.06	10.51
Fracción de AcOEt 50 mg/kg	0.86	6.0	--
FrAcR 50 mg/kg	0.96	6.57	12.78
β -sitosterol 2.5 mg/kg	0.99	6.0	--
β -sitosterol 5 mg/kg	1.027	6.03	11.10
β -sitosterol 10 mg/kg	1.027	6.16	14.02
β -sitosterol 25 mg/kg	1.04	6.17	16.35
β -sitosterol 40 mg/kg	1.051	6.21	18.10

-- Volumen de orina muy escaso, no se pudo medir la conductividad por lo cual no se pudo determinar la cantidad de NaCl excretado.

5. CONCLUSIONES

El extracto etanólico presentó una mejor actividad en el aumento de excreción de orina a la dosis de 500 mg/kg.

Sólo la fracción de diclorometano tuvo actividad en el aumento de excreción de orina a la dosis de 50mg/kg.

El estudio fitoquímico biodirigido del extracto etanólico de las hojas y de los tallos de *Geranium niveum* S. Watson permitió la obtención del β -sitosterol, uno de los compuestos responsables del aumento en la excreción de orina en ratones, presentando una mejor actividad a la dosis de 25 mg/kg.

El presente estudio justifica en parte el uso de la especie *Geranium niveum* en la medicina tradicional mexicana y aporta información científica de la utilidad de la planta como agente diurético.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adam, Enciclopedia multimedia, URL: www.lifespan.org/adam/spanishhealthillustratedencyclopedia/5/001266. (consulta 20 de febrero 2012 a las 18:45).
- Aguilar A., Camacho J., Chino P., Jácquez P., López, M., 1998. Plantas medicinales del Herbario IMMSS: Su distribución por enfermedades, Primera edición México, pp 122, 123, 171 y 189.
- André Seidenberg 2000. Metadona, heroína y otros compuestos opioides. 1ª edición, edit. Días de los Santos, España, pp 35.
- Argueta, A., Cano, L., Rodarte, M., 1994. Atlas de plantas de la medicina tradicional mexicana. 1ª edición, edit. Instituto Nacional Indigenista, I:15-25.
- BDMTM Biblioteca digital de la medicina tradicional Mexicana. URL: www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php (consulta 02 de marzo 2012, a las 18:10)
- Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., Bye, R., Mata, R. 2001. Geranins C and D, Additional New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum*. *Planta Med.* 67, 677-680
- Calzada, F., Cerda-García-Rojas CM., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Bye, R., Mata, R., 1999. Geranins A and B, New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum*, *J. Nat. Prod.* 62, 705-709
- EHMSA, Herbolaria mexicana. URL: www.ehmsa.com/area.asp?area=11 (consulta 03 de marzo 2012, a las 17:20).
- Gálvez, M., 2011. Determinación del aumento de la excreción urinaria en ratones, causado por el extracto de *Parmentiera edulis* D.C. como indicativo de su potencial diurético. Tesis de licenciatura (Biología Experimental), Universidad Autónoma Metropolitana (UAM).
- Guyton, A., 2001. Tratado de fisiología médica. 10ª edición, edit. MacGraw-Hill Interamericana, México, pp 447-449.
- <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema9.pdf> (consulta 02 de marzo 2012, a las 17:05 horas).

- <http://www.chemblink.com/products/99-24-1.htm> (consulta 11 de mayo 2012, a las 20:40 horas).
- http://www.extrasynthese.com/catalogue/flavonoids/hyperin,r21,p1176787,c0000_hcp.html (consulta 05 de mayo 2012, a las 14:25 horas).
- http://www.lifespan.org/SiteSearch/SiteSearch.asp?layout_SearchField=diuresis (consulta 10 de marzo 2012, a las 18:30 horas)
- <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7771> (consulta 18 de marzo 2012, a las 15:20 horas).
- <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7778> (consulta 18 de marzo 2012, a las 15:35 horas).
- <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7166> (consulta 18 de marzo 2012, a las 15:42 horas).
- <http://www.tetrahedronsci.com/549-32-6/Reynoutrin.html> (consulta 06 de mayo 2012, a las 13:10 horas).
- <http://www-jmg.ch.cam.ac.uk/data/molecules/misc/taxol.html> (consulta 06 de mayo 2012, a las 13:30 horas).
- Ira, Fox., 2003. Fisiología Humana. 7ª edición, edit. MacGraw-Hill Interamericana, Madrid España, pp 546-549 y 573-574.
- Myers, N. Securing the fabric of life. People ant the Planet 1998 7:4. 6-9.
- Maldonado P., Rivero-Cruz I., Mata R., Pedraza-Chaverrí J. Antioxidant Activity of A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum* (Geraniaceae). Journal of agricultural and food chemistry 2005, 53, 1996-2001.
- Mata, R., Rivero, J., 2000. Curso Teórico de Farmacognosia. México, D.F. pp 4-6.
- PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. UNAM, 2011. URL:http://www.facmed.unam.mx/bmnd/dirijo.php?bib_vv=6 (Consulta 23 de febrero 2012, a las 21:15 horas).
- Report on Carcinogens, Twelfth Edition, 2011, National toxicology program, department of health and human services URL: <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/Reserpine.pdf> (consulta 03 de mayo 2012, a las 18:00 horas).
- Tlahui, Medicina tradicional de México y sus plantas medicinales, Tlahui-Medic. No. 18, II/2004. URL:

<http://www.tlahui.com/medic/medic18/neem.htm> (Consulta marzo 2012).

- UAM. Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de medicina farmacológica
http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/FG_General/FG_T44d.pdf (consulta 01 de marzo 2012, a las 19:05 horas).
- Uriarte, V., 2003. Farmacología clínica. 1ª edición, edit. Trillas, México, pp 913-933.
- Velázquez B., Moreno A., Lizasocin I., Lez J.C., Moro M.A. Portales., 2008. Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición, edit. Médica Panamericana, Madrid, pp. 405-407