

Departamento de Biología del Desarrollo, Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) y Universidad Nacional de Tucumán (UNT). Tucumán, Argentina

Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas

MSc. Natalia Habib Intersimone,¹ Farmac. Adriana Daud Thoene,² y Dra. Alicia Sánchez Riera³

Resumen

Se realizó un estudio experimental en ratas línea Wistar, con el objetivo de valorar el posible efecto diurético del extracto acuoso y etanólico de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) Eichler (corpo) en dosis de 200 y 400 mg/kg de peso corporal. Los resultados fueron comparados con los obtenidos con la furosemida, diurético de referencia, en la dosis de 20 mg/kg de peso y con solución fisiológica utilizado como control negativo. La excreción urinaria se midió a las 24 h y se determinó en el volumen final la concentración de Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺ y P. Se pudo comprobar la acción diurética de los extractos acuoso y etanólico de *P. acutifolius*. Los extractos acuoso de 200 mg/kg y alcohólico de 200 mg/kg demostraron tener mayor poder natriurético respecto a las otras dosis estudiadas. Al compararlos con la furosemida se observó que la excreción de potasio en orina disminuyó lo que sugirió una acción diurética actuando como ahorradores de potasio. Posteriores investigaciones son necesarias para dilucidar el mecanismo de la acción diurética de los extractos analizados.

Palabras clave: Extractos vegetales, diuréticos, *Phrygilanthus acutifolius*, plantas medicinales, furosemida.

A pesar del gran desarrollo alcanzado por la síntesis química, en la actualidad, las plantas medicinales continúan siendo un valioso arsenal de sustancias o de sus precursores, ya sea en forma de medicamento vegetal o de materia prima para la industria farmacéutica.

El valor de los remedios folclóricos es reconocido actualmente por la medicina moderna, la investigación de nuevos y potenciales fármacos derivados de plantas es más exitosa si estas son elegidas sobre una base etnomédica ya que fue demostrado ampliamente que existe una significativa correlación entre los efectos farmacológicos de uso popular y su evidencia científica. El reconocimiento de su valor como recurso clínico, farmacéutico y económico va en aumento.

En Argentina, grandes segmentos de la población tanto urbana como rural, recurren a las hierbas medicinales para combatir alguna de las afecciones más comunes de origen respiratorio, digestivo, renal, dermatológico así como la diabetes mellitus e hipertensión arterial, entre otras. Los autores *Ralerra EL* y *Ralera MO* han publicado en este país en 1980 un documento titulado "Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular". Otros autores también han abordado esta temática.¹⁻³

En base a los datos analizados se encontró que el 97 % de la población rural usa distintas plantas medicinales, de las cuales se eligió una especie poco estudiada que pertenece a la familia *Loranthaceae*. Estas plantas están distribuidas en regiones tropicales y subtropicales de Sudamérica y han sido citada en la literatura como antidiabéticas, anticonvulsivantes, antimicrobianas y como terapia complementaria para el tratamiento del cáncer.⁴⁻⁷

El *Phrygilanthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) Eichler, **sinónimos:** *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) Tiegh (1895), *Loranthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) (1879), hemiparásito de nombre vulgar corpo, pertenece a esta familia; los lugareños de Amaicha del Valle (Valles Calchaquíes, Tucumán, Argentina) usan sus flores no sólo para la ornamentación de ofrendas en la festividad religiosa de *Corpus Cristie*, sino como antiinfecciosa y para enfermedades de distintos orígenes, principalmente respiratorias. En Brasil, se le atribuyen propiedades en la regulación de la glucemia y como ansiolítico (Gomez R, Cervi FL, Guntzel C, Maslinkiewicz A, Barros HMT. Curva glicêmica e variação de peso pelo extrato de erva de passarinho (*Phrygilanthus acutifolius*) em ratos. Resumos- XV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biología Experimental. Caxambu 2001; MG: 217), (Cervi FL, Maslinkiewicz A, Guntzel C, Gomez R, Barros HMT. Perfil ansiolítico do chá de erva de passarinho (*Phrygilanthus acutifolius*) em ratos: estudo do uso agudo e crônico. Resumos- XV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biología Experimental, Caxambu 2001; MG: 218).

En los laboratorios del INSIBIO-UNT, se demostró que los extractos etanólicos de *P. acutifolius* poseen actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram (+) y Gram (-) resistentes a diferentes antibióticos,⁶ de ahí que fuera interesante valorar el potencial efecto diurético de los extractos acuoso y etanólico de *P. acutifolius*. Se estudió la administración oral por cuanto es la vía de uso popular más frecuente.

Métodos

Planta

Las flores en estudio fueron recolectadas por los autores durante los meses de mayo y junio de 2003-2004 en horas de la mañana, en los valles Calchaquíes-Amaicha del Valle, Tucumán, Argentina, período en que la planta está en su máxima floración. Pertenece a la especie *P. acutifolius* (Ruiz & Pav.) Eichler,⁸ identificada taxonómicamente por la Cátedra de Botánica de la Facultad de Ciencias Naturales, comparándola con especímenes del Herbario "Miguel Lillo" de San Miguel de Tucumán (Ref. N° 511125).

Para esta investigación se utilizaron los extractos acuosos y etanólicos de las flores de *P. acutifolius*. El material desecado fue desmenuzado en partículas de aproximadamente 5 a 10 mm de diámetro.

Para la preparación del extracto etanólico se tomaron 20 g de flores secas y se dejaron reposar durante 5 días en 100 mL de etanol al 70 %. Para el extracto acuoso se siguieron los mismos pasos pero el reposo fue de 2 días en 100 mL de agua. Todos los extractos fueron filtrados con papel Whatman No. 1 y evaporados hasta sequedad al vacío. Los extractos crudos secos fueron esterilizados con luz ultravioleta, y almacenados en viales *Eppendorf* estériles a 4⁰ C antes de ser utilizados, para ello fueron reconstituidos en una concentración de 200 mg/mL ya fuera en etanol 70 % o bien en agua estéril.

Animales

Para evaluar la diuresis se utilizaron 36 ratas de sexo masculino de la línea Wistar procedentes del bioterio de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Instituto de Biología (INSIBIO), con un peso corporal entre 190-240 g. Todos los animales fueron mantenidos en condiciones normales de humedad, temperatura (25 ± 1 °C) y luz (12 h día: 12 h noche). Todos los animales fueron privados de agua 18 h antes del experimento, teniendo libre acceso a la alimentación, luego de haber permanecido durante una semana en climatización.

Para el estudio comparativo del extracto se formaron 6 grupos de 6 animales cada uno distribuidos aleatoriamente de la siguiente forma:

•

Grupo I: tratados con solución de cloruro de sodio al 0,9 % (control negativo).

- Grupo II, III: tratados con solución acuosa del extracto en dosis de 200 y 400 mg/kg de peso corporal, de extracto seco que corresponde a 1,53 g y 3,06 g de flores secas, respectivamente.
- Grupo IV y V: tratados con solución etanólica al 70 % del extracto en dosis de 200 y 400 mg/kg de peso corporal, de extracto seco que corresponde a 0,592 g y 1,184 g de flores secas, respectivamente.
- Grupo VI: tratados con furosemida en dosis de 20 mg/kg de peso (control positivo).

Las dosis se calcularon en base al material vegetal seco.

En todos los casos, las sustancias de ensayo fueron administradas por vía oral. Todas las diluciones se prepararon en cloruro de sodio al 0,9 % para igualar estos volúmenes.

Luego de la administración, los animales fueron colocados de forma individual en jaulas metabólicas para coleccionar la orina. La acción diurética fue evaluada según el método de *Lipschitz* y otros⁹ donde se registró el volumen de orina a las 24 h, así como las concentraciones de Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺ y P excretados en el volumen final.

El pH de la orina fue registrado en todos los casos.

Para calcular la acción diurética de las drogas en cada grupo se utilizó la siguiente fórmula:¹⁰

$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Volúmen urinario control}}{\text{Volúmen urinario tratado}} \times 100$$

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue llevado a cabo mediante la prueba t de *Student*. Los resultados fueron expresados como la media \pm SEM (error estándar de la media), con $p \leq 0,05$.

Resultados

Volumen de orina

En la tabla 1 se aprecia que tanto el extracto acuoso como el etanólico aumentaron el volumen total de orina excretada durante 24 h, sin embargo, con el extracto acuoso a dosis de 200 y 400 mg/kg se observó un incremento de dicho volumen de 141 % y 151 % sobre los valores del control negativo. Los extractos etanólicos tuvieron una excreción menor: 74 % y 47 % para las dosis de 200 y 400 mg/kg, respectivamente. El diurético de referencia furosemida produjo un incremento de 77 %, similar a la dosis de 200 mg/kg del extracto etanólico. El pH se mantuvo sin variaciones significativas en todas las ocasiones.

Tabla 1. Orina acumulada en ratas por un período de 24 h luego de la administración oral de los extractos acuoso y alcohólico de *P. acutifolius*

Tratamiento	Orina total (mL)	Porcentaje de incremento de la acción diurética
Control (NaCl 0,9 %)	12,4 ± 2,5	100
E. Aq. P.a. 200 mg/kg	24,1 ± 2,6*	141
E. Aq. P.a. 400 mg/kg	30,8 ± 3,0*	151
E. Ol. P.a. 200 mg/kg	20,1 ± 2,7*	74
E. Ol. P.a. 400 mg/kg	17,7 ± 2,1*	47
Furosemida 20 mg/kg	17,7 ± 2,0*	77

Valores expresados en media ± SEM (n = 6),
significación estadística respecto al grupo control $p < 0,05^*$,

E. Aq. P.a.: extracto acuoso de *P. acutifolius*, E. Ol. P.a.: extracto alcohólico de *P. acutifolius*.

Electrolitos urinarios

Se midió el contenido de electrolitos urinarios (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} y P) en el volumen de orina excretada durante 24 h con diferentes dosis de los extractos acuoso y etanólico (200 y 400 mg/kg) como se observa en la tabla 2.

Tabla 2. Efecto de la administración oral de los diferentes extractos de *P. acutifolius* sobre algunos indicadores urinarios en ratas

Indicadores	Control (Sol. fisiológica)	Furosemida (20 mg/kg)	Grupo tratado con <i>P. acutifolius</i> (mg/kg)			
			E. Aq 200	E. Aq 400	E. Ol 200	E. Ol 400
pH	8,5	8	7	7,5	8	7
Na+	12,14 ± 2,30	59,50 ± 5,20*	62,00 ± 6,50*	35,00 ± 2,50*	53,00 ± 4,60*	28,00 ± 1,92*
K+	31,85 ± 1,97	55,83 ± 4,75*	8,30 ± 0,95*	34,47 ± 2,70*	10,10 ± 1,20*	27,00 ± 1,35*
Cl-	74,33 ± 2,60	87,29 ± 3,10*	66,00 ± 2,40*	83,33 ± 3,90*	70,00 ± 2,90*	59,50 ± 2,10*
Ca++	35,66 ± 1,35	8,39 ± 2,85*	14,80 ± 1,70*	13,47 ± 1,40*	16,25 ± 1,89*	9,10 ± 2,61*
P	4,13 ± 0,35	17,72 ± 0,55*	5,65 ± 0,65*	6,56 ± 1,00*	5,35 ± 1,20*	4,17 ± 0,95*
Na+/K+	0,38 ± 0,05	1,07 ± 0,20*	7,47 ± 0,50*	1,01 ± 0,18*	5,26 ± 0,27*	1,04 ± 0,15*

Valores expresados en media ± SEM (n = 6),
significación estadística respecto al grupo control $p < 0,05^*$,

los iones se expresan en mEq/L, E. Aq: extracto acuoso, E. Ol: extracto alcohólico.

Los resultados del tratamiento con el extracto acuoso demostraron un significativo incremento de la natriuresis comparada con el grupo control y el tratado con furosemida. Se observó que con la dosis de 200 mg/kg el contenido de Na^+ ($62,00 \pm 6,50$ mEq/L) fue superior al obtenido con furosemida ($59,50 \pm 5,20$ mEq/L) incrementándose 5 veces con respecto al grupo control ($12,14 \pm 2,30$ mEq/L). Similares resultados se obtuvieron con el extracto etanólico.

Con la dosis de 400 mg/kg el contenido de Na^+ para el extracto acuoso ($35,00 \pm 2,50$ mEq/L) fue significativamente inferior a la natriuresis provocada por el mismo extracto a dosis de 200 mg/kg ($62,00 \pm 6,50$ mEq/L), y superior a la obtenida por el grupo control ($12,14 \pm 2,30$ mEq/L). Resultados semejantes se obtuvieron con el extracto etanólico.

Cuando se analizó la excreción de K^+ , se observó que existe diferencia significativa entre los extractos y las dosis empleadas. Se apreció que con dosis de 400 mg, tanto del extracto acuoso como alcohólico la excreción de K^+ , fue similar ($34,47 \pm 2,70$ mEq/L y $27,00 \pm 1,35$ mEq/L respectivamente) a la del control ($31,85 \pm 1,97$ mEq/L) e inferior al de la furosemida ($55,83 \pm 4,75$ mEq/L), conocido diurético excretor de K^+ .

Por otra parte, los extractos acuoso y alcohólico de 200 mg/kg produjeron un notable descenso en la excreción de K^+ comparándolos con el grupo control y con furosemida.

También se analizaron los iones Cl^- , Ca^{2+} y P, observándose que para el ión Cl^- los extractos produjeron pequeñas variaciones en cuanto a su excreción tanto con respecto al grupo control como a la furosemida. Con referencia al ión Ca^{2+} los extractos disminuyeron considerablemente su excreción con respecto al grupo control, en cambio la excreción de P fue similar al del grupo control en las dosis estudiadas e inferior a los tratados con furosemida.

Discusión

Los diuréticos incrementan el volumen urinario y la eliminación de electrolitos por lo que son utilizados para regular tanto el volumen como la composición del medio interno en diferentes afecciones como la hipertensión, insuficiencia cardiaca, síndromes nefróticos, entre otros. La furosemida incrementa notablemente la saluresis, especialmente la excreción de Na^+ y Cl^- motivo de su elección para este estudio como control positivo.¹¹

El efecto diurético de los extractos acuosos y alcohólicos de flores de *P. acutifolius* quedó demostrado en el presente trabajo al existir una respuesta diurética positiva en las dosis ensayadas: 200 y 400 mg/kg, comparadas con el grupo control y con la furosemida. Se demostró que los extractos acuosos de 200 y 400 mg/kg produjeron un mayor volumen de orina en 24 h. Los extractos etanólicos en iguales dosis y la furosemida mostraron un incremento del volumen urinario similar, pero significativamente inferior al obtenido con el extracto acuoso.

Por otra parte, se observó que tanto el extracto acuoso como alcohólico en dosis de 200 mg/kg tuvieron un aclaramiento (*clearance*) de Na^+ mayor que con 400 mg/kg y eliminaron una menor cantidad de potasio. Esto podría deberse al hecho de que el extracto está constituido por diferentes sustancias que podrían interferir entre si a medida que la concentración se incrementa. Las diversas sustancias presentes en el extracto crudo podrían a su vez modificar la absorción, distribución o unión al receptor con los componentes activos.¹⁰

Se analizó la relación Na^+/K^+ observándose su incremento para ambos extractos en dosis de 200 mg/kg (acuoso: $7,47 \pm 0,50$ y etanólico: $5,26 \pm 0,27$) frente a la relación de $0,38 \pm 0,05$ y de $1,07 \pm 0,20$ del control negativo y de furosemida, respectivamente. Se conoce que el cociente Na^+/K^+ serviría como indicador para comparar el efecto de los diferentes diuréticos, así en la furosemida (diurético de elevada eficacia) tiene un valor de aproximadamente igual a 1, debido a la

alta eliminación de ambos iones en orina. Para las tiazidas este cociente es menor que 1, ya que aumenta la concentración urinaria de potasio, alterando la relación Na^+/K^+ . En el caso de los ahorradores de potasio el cociente es mayor que 1 ya que las concentraciones de este ión en orina se encuentran disminuidos.¹²

Los extractos analizados no actúan como la furosemida, ni tampoco presentan el perfil de las tiazidas. Ambos extractos en dosis de 200 mg/kg elevaron la relación Na^+/K^+ porque produjeron una disminución en la excreción de K^+ , lo cual indica que están actuando como ahorradores de potasio (tabla 2).

En contraste, la relación Na^+/K^+ alcanzó valores aproximados a 1 con 400 mg/kg, similares al de la furosemida, posiblemente debido al contenido de K^+ del extracto ($585 \pm 4,84$ mEq/100 mg) administrado a mayor dosis, sin embargo los valores de los electrolitos plasmáticos fueron semejantes en todos los grupos analizados, tanto controles como tratados con los extractos al cabo de 24 h, por lo tanto, la respuesta diurética no es el resultado de un efecto salino, sino que representa una actividad intrínseca.

Los presentes resultados demuestran los efectos diurético y salurético de los extractos acuosos y etanólicos de las flores de *P. acutifolius*. Posteriores investigaciones son necesarias para dilucidar el mecanismo de la acción diurética de los extractos analizados.

Summary

Diuretic effect of aqueous and alcoholic extracts from flowers of *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) in rats

An experimental study was conducted in Wistar rats, to evaluate the potential diuretic effect of aqueous and ethanol extracts of flowers from *Phrygilanthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) Eichler in doses of 200 and 400 mg/kg of body weight. Results were compared to those obtained from furosemide in dose of 20 mg/kg of body weight (reference diuretic) and saline solution (negative control). Urinary excretion was measured at 24 h, and the concentration of Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} and P was determined in the final volume. Diuretic action of extracts from *Phrygilanthus acutifolius* was confirmed. Aqueous and ethanol extracts at the dose of 200 mg/kg of body weight demonstrated more natriuretic activity than the others studied doses. On comparing them with furosemide, it was observed that the excretion of potassium in urine decrease, which suggested a diuretic action acting as potassium savers. Further researches are necessary to elucidate the mechanism of diuretic action of the analyzed extracts.

Key words: *Phrygilanthus acutifolius*, plant extracts, diuretics, medicinal plants, furosemide.

Referencias bibliográficas

1. Digilio Antonio PL, Legname PR. Los árboles indígenas de la provincia de Tucumán. Tucumán, Argentina: Ed. Fundación Miguel Lillo; 1966. p. 25.
2. Martínez Crovetto R. Estudios etnobotánicos II. Nombres de plantas y su utilidad según los indios tobas del este de Chaco Argentina. Bonplandia. 1965;4:270-333.
3. Martínez Crovetto R. Las plantas usadas en medicina popular en el noroeste de Corrientes. Tucumán, Argentina: Ed. Fundación Miguel Lillo; 1981.
4. Obatomi DK, Bikomo EO, Temple VJ. Anti-diabetic properties of the african mistletoe in streptozotocine-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 1994;43:13-7.

- Amabeoku GJ, Leng MJ, Syce JA. Antimicrobial and anticonvulsant activities of *Viscum capense*. J Ethnopharmacol. 1998;61:237-41.
6. Daud A, Gallo A, Sánchez Riera A. Antimicrobial properties of *Phrygilanthus acutifolius*. J Ethnopharmacol. 2005;99:193-7.
 7. Maier G, Fiebig H. Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extract *in vitro*. Anticancer Drugs. 2002;13:373-9.
 8. Abbiatti D. Sinopsis de las Lorantaceas argentinas. Revista Argentina de Agronomía. 1943;10:1-25.
 9. Lipschitz NL, Hadidiern L, Kerpear A. Bioassay of diuretics. J Pharmacological Experiments and Therapeutics. 1943;79:97-100.
 10. Teshome N, Negussu M, Kelbessa U. Diuretic effect of the crude extracts of *Carissa edulis* in rats. J Ethnopharmacol. 2004;95:57-61.
 11. Jackson EK. Diuretics. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman GA, editors. Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill; 2001.p. 755-88.
 12. Ratnasooriya WD, Pieris KPP, Samaratunga U, Jayakody JRAC. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. J Ethnopharmacol. 2004;91:317-20.

Recibido:15 de junio de 2005. Aprobado: 23 de agosto de 2005.

Dra. *Alicia Sánchez Riera*. Departamento de Biología del Desarrollo, INSIBIO (CONICET- UNT). Chacabuco 461, 4000-San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. Fax: 54-381-4248025 e-mail: sariera@unt.edu.ar

¹ **Máster en Administración y Gestión en Servicios y Sistemas de Salud.**

² **Farmacéutica.**

³ **Doctora en Bioquímica.**