

**Efecto diurético del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standley "guayacán" en ratas.**

**Diuretic effect of ethanol extract from the bark of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standley "guayacán" in rats.**

**O efeito diurético de extracto de etanol de casca de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standley "guayacán" em ratos.**

Marcelino Sarmiento-Campos<sup>1</sup>, Jorge Arroyo Acevedo<sup>1</sup>, César Franco Quino<sup>1</sup>, Sergio Ronceros Medrano<sup>1</sup>, Martín Condorhuamán Figueroa<sup>1</sup>, César B. Cisneros Hilario<sup>1</sup>.

**Resumen**

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto diurético del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* en ratas albinas. Se usaron 36 individuos de 297±33 g de peso corporal, formándose seis grupos experimentales; recibiendo el grupo I: Suero fisiológico al 0,9% (2mL/kg), grupo II: Hidroclorotiazida (20 mg/kg), grupo III: Furosemida (20 mg/kg), los grupos IV, V, y VI: extracto a dosis de 50, 250 y 500 mg/kg, respectivamente. Las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas individuales para recolectar la orina (24h) y cuantificar electrolitos excretados (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>). Concluyéndose que *Tabebuia impetiginosa* evidencia efecto diurético en ratas.

Palabras clave: Diuresis, furosemida, hidroclorotiazida, natriuresis, *Tabebuia impetiginosa*.

**Abstract**

This research aims to evaluate the diuretic effect of ethanol extract from the bark of *Tabebuia impetiginosa* in rats. To which 36 albino rats of 297 ± 33 g body weight, forming six experimental groups was used; I am receiving group I: 0.9% physiological saline (2 mL /kg), group II: Hydrochlorothiazide (20 mg / kg), Group III: Furosemide (20 mg/kg), the groups IV, V, and VI: extract at doses of 50, 250 and 500 mg / kg, respectively. The rats were placed in individual metabolic cages to collect urine (24h) and quantify excreted electrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>). *Tabebuia impetiginosa* concluded that evidence diuretic effect in rats.

Keywords: Diuresis, furosemide, hydrochlorothiazide, natriuresis, *Tabebuia impetiginosa*.

**Resumo**

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito diurético da extrato etanólico da casca de *Tabebuia impetiginosa* em ratos. Para que foi utilizado 36 ratos albinos de 297±33 g de peso corporal, formando seis grupos experimentais; Eu estou recebendo grupo I: 0,9% de solução salina fisiológica (2 mL/kg), grupo II: hidroclorotiazida (20 mg/kg) Grupo III: furosemida (20 mg kg), os grupos IV, V, e VI: extrato em doses de 50, 250 e 500 mg / kg, respectivamente. Os ratos foram colocados em gaiolas metabólicas individuais para recolher a urina (24 h) e quantificar electrólitos excretados (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>). *Tabebuia impetiginosa* concluiu que efeito diurético evidências em ratos.

Palabras-chave: Diurese, furosemida, hidroclorotiazida, natriurese, *Tabebuia. impetiginosa*.

<sup>1</sup> Univ. Nac. Mayor de San Marcos, labmarcell@hotmail.com

Recibido, 30 de marzo de 2016  
Aceptado, 10 de junio de 2016

## Introducción

La fitoterapia es utilizada desde la aparición del ser humano sobre la tierra, estos conocimientos fueron transmitidos de generación en generación y hoy son una fuente en investigación para obtener nuevos fármacos (Cruz, 2007); en diversas culturas se emplearon sustancias medicinales para depurar toxinas, venenos; para ello, utilizaron laxantes, expectorantes y diuréticos (Halberstein, 2012).

Los diuréticos son un grupo de medicamentos terapéuticos usados para regular el volumen o la composición de los líquidos corporales (Jackson, 2012), favorecen la diuresis disminuyendo la reabsorción e incrementando la eliminación de sodio y agua (Mora, 2015), son útiles para el tratamiento de hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca aguda, insuficiencia renal aguda y crónica, síndrome nefrótico, cirrosis (Jackson, 2012), para reducir el edema, y reducir la presión intraocular elevada <sup>(5)</sup>; de acuerdo a su mecanismo de acción diferente; los diuréticos de ASA son considerados de alta eficacia; las tiazidas, de eficacia media; y a los ahorradores de potasio, los osmóticos y los inhibidores de la anhidrasa carbónica, de eficacia ligera (Mora, 2015).

*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standley “guayacán” es originaria de la selva tropical de América central y Sudamérica (Gómez y col., 2008); tradicionalmente es utilizado para el tratamiento de úlceras, sífilis, trastornos gastrointestinales, candidiasis, diabetes, alergias (Park y col., 2006); así como agente antitumoral, antipirético, antimalárico y antimicrobiano contra sífilis y tripanosomiasis (Gómez y col., 2008), posee compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas y taninos (Warashina y col., 2005); estudios *in vitro* indican que posee lapachol y B-lapachone con gran actividad antitumoral y efectos pro-apoptóticos (Gómez y col., 2008).

La HTA es una de las patologías crónicas más frecuentes en el mundo, la incidencia oscila entre el 40% (65 años) y 90% (>85 años) (Nychapda y col., 2015), por ello el panel de Miembros del Octavo Comité Nacional (JNC VIII), en el 2014, recomendaron el inicio del tratamiento de la HTA con diuréticos tipo tiazídicos, seguidos de los bloqueante de canales de calcio, los IECA y ARA II (James y col., 2013); sin embargo, la hidroclorotiazida y furosemida, utilizadas para el tratamiento de la HTA, han sido asociadas con la pérdida de la audición.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto diurético del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* “guayacán” en ratas comparado con la furosemida e hidroclorotiazida; se busca nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de la HTA, edema, insuficiencia cardíaca, y otras patologías tratables con diuréticos con menores efectos adversos.

## Material y métodos

*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standley “guayacán” fue recolectada en el distrito de Juan Guerra, provincia de Tarapoto, departamento de San Martín; e identificada mediante resolución RD N°0311-2013- MINGRI.DGFFS-DGFFS según el sistema de clasificación taxonómica de Cronquist 1988; por el Biólogo Botánico José Campos De la Cruz (C.B.P. N° 3796)

El extracto etanólico fue preparado de la corteza del árbol de la *Tabebuia impetiginosa*, macerado en etanol de 96° protegidas de luz y calor durante 7 días, se filtró con Papel Whatman N°2 para ser secado en una estufa (40°C) durante 48 horas, el procesamiento se realizó en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNMSM; el extracto obtenido se conservó en un envase ámbar y en refrigeración (5°C) hasta su posterior uso reconstitución con agua destilada (Lock de Ugaz, 1988).

El estudio fitoquímico del extracto se realizó en el laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, al cual se le practicó las reacciones de Shinoda, cloruro férrico, Molish, Dragendorff, Lieberman, Mayer, mediante el método de Lock (1994), se realizó con 5mL de solución y 5 gotas de reactivo.

Para realizar la evaluación experimental de diuresis, se utilizó el método propuesto por Arroyo en el año 2000; se utilizó 36 ratas machos de la línea albina Holtzman procedentes de Instituto Nacional de Salud-Chorrillos con peso de 297±33g. Los animales fueron aclimatados durante siete días en el Bioterio la Facultad de Medicina de UNMSM, luego agrupados en jaulas especiales a temperatura e iluminación del ambiente, alimentación balanceada y agua *ad libitum*, 24 horas previas fueron sometidas a ayunas. Posteriormente las ratas fueron pesadas, marcadas y distribuidas de manera aleatoria en 6 grupos de 6 ratas cada uno; grupo I: control negativo, suero fisiológico (0,9%), grupo II: Control positivo, Hidroclorotiazida (20mg/kg), grupo III: control positivo, furosemida (20mg/Kg), grupo IV, V, VI: tratados con extracto etanólico a 50mg/Kg, 250mg/Kg y 500mg/Kg respectivamente. Se colocaron en jaulas metabólicas individuales a temperatura ambiental, se recolectó la orina durante 24 horas, se evaluó el pH de cada muestra de orina al inicio y al final mediante un pHmetro de papel (Universal Test Paper®); asimismo, se cuantificó los electrolitos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>) en la orina recolectada. La determinación de las concentración de electrolitos en orina se realizó usando el fotómetro de llama (Modelo Toshniwal TCM); el efecto diurético fue evaluado mediante el registro de volumen de orina a las 24 horas.

Los datos se expresaron en media ± desviación estándar, la comparación entre grupos se estimó mediante el ANOVA y posteriormente mediante T de Student para muestras relacionadas y para muestras independientes; se consideró significativo un valor p<0,05, intervalo de confianza al 95%; para todos los casos se empleó el software estadístico SPSS 21.

Para el manejo de animales se consideró la Guía de ética para animales de experimentación (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011).

## Resultados

**Tabla 1.** Marcha fitoquímica del extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa*

Reacción de identificación	Metabolito secundario	Cantidad
Dragendorff	Alcaloides	++++
Bertrand	Alcaloides	++
Agua de Bromo	Taninos condensados	++
Shinoda	Flavonoides	+
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
Ensayo de espuma	Saponinas	+++
Lieberman-Buchard	Triterpenos/Esteroides	++
Börntrager	Quinonas	+

(++++) Muy abundante, (+++) Abundante, (++) Moderado, (+) Escaso, (-) Ausente

**Tabla 2.** Diuresis y cambio de pH de la orina

Tratamiento N(6)**	Evaluación a las 24 horas*			
	Volumen de orina*** (ml/100g)	pH basal†	pH final†	Δ pH***
Suero Fisiológico	1,4 ± 0,7	7,1 ± 0,1	7,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,1
Hidroclorotiazida	2,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,1	7,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	-0,5 ± 0,6 <sup>a</sup>
Furosemida	4,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	6,5 ± 0,1	6,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,6 <sup>b</sup>
Extracto 50mg/kg	2,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,1	6,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	-0,5 ± 0,6 <sup>a</sup>
Extracto 250mg/kg	2,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6	6,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	-0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
Extracto 500mg/kg	3,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	6,5 ± 0,6	6,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	-0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>

\*Valores expresados en Media ± Desviación Estándar, \*\*ANOVA (P=0,05), \*\*\*Variaciones para comparaciones múltiples mediante el *Test de Student* para muestras independientes: a (p<0,05), b (p>0,05) †*Test de Student* para muestras relacionadas a (p<0,05), b (p>0,05)

**Tabla 3.** Concentración de electrolitos en la diuresis de 24 horas

Tratamiento n(6)**	Promedio mEq/24h ± Desviación estándar*		
	Na+***	K+***	Cl-***
Suero Fisiológico	133,0 ± 40,9	61,3 ± 23,9	109,7 ± 29,3
Hidroclorotiazida	181,3 ± 27,5 <sup>b</sup>	62,3 ± 27,1 <sup>b</sup>	169,7 ± 30,9 <sup>b</sup>
Furosemida	213,7 ± 18,4 <sup>a</sup>	83,0 ± 23,6 <sup>b</sup>	172,3 ± 42,8 <sup>b</sup>
Extracto 50mg/kg	168,7 ± 28,3 <sup>b</sup>	79,0 ± 43,6 <sup>b</sup>	202,7 ± 26,7 <sup>b</sup>
Extracto 250mg/kg	206,3 ± 45,4 <sup>b</sup>	80,0 ± 17,3 <sup>b</sup>	182,0 ± 23,5 <sup>b</sup>
Extracto 500mg/kg	196,0 ± 7,5 <sup>b</sup>	80,0 ± 16,5 <sup>b</sup>	189,0 ± 30,9 <sup>b</sup>

\*Valores expresados en Media ± Desviación Estándar, \*\*ANOVA (P=0,05), \*\*\*Variaciones para comparaciones múltiples mediante el *Test de Student* para muestras independientes: a (p<0,05), b (p>0,05)

## Discusión

Al realizar el análisis fitoquímico del extracto de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* se identificó la presencia de metabolitos secundarios, encontrando una mayor cantidad de alcaloides, compuestos fenólicos, saponinas y una baja cantidad de quinonas y flavonoides (tabla 1).

En la evaluación del volumen de orina a las 24 horas se observa efecto diurético significativo en todos los grupos ( $p < 0,05$ ) en relación al control negativo (tabla 2), observándose el mayor efecto del grupo tratado con furosemida ( $4,3 \pm 0,3$ ml); seguido del extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* a dosis de 500mg/kg ( $3,1 \pm 0,1$ ml); la hidroclorotiazida y la *Tabebuia impetiginosa* a dosis de 50mg/kg lograron un efecto diurético ( $2,6 \pm 0,2$ ml). Asimismo, se observó un incremento del pH de la orina para los grupos tratados con furosemida y suero fisiológico ( $p > 0,05$ ), además de reducir el pH urinario para los grupos tratados con hidroclorotiazida y extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* ( $p < 0,05$ ), sin efecto dosis dependiente, el extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* a una dosis de 250mg/kg logro una mayor variación del pH de la orina (tabla 1).

El dosaje de electrolitos urinarios a las 24 horas, muestra natriuresis no significativa en todos los grupos, en relación al grupo tratado con suero fisiológico ( $p > 0,05$ ), con la excepción del grupo furosemida ( $p < 0,05$ ); del mismo modo la concentración de  $K^+$  y  $Cl^-$  presentó incremento no significativo para todos los grupos ( $p > 0,05$ ); sin embargo, se observa una menor variación en los grupos tratados con hidroclorotiazida (tabla 3).

Los resultados del presente estudio sugieren que el extracto de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* administrados por vía oral tuvieron efectos diuréticos moderados dependientes de la dosis, similares y superiores a la hidroclorotiazida e inferiores a la furosemida (tabla 2), en el análisis fitoquímico se evidencia la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y saponinas de forma más acentuada (tabla 1); estos resultados coinciden con Warashina et al. quienes encontraron glucósidos irinoides (alcaloides), glucósidos lignanos, glucósidos fenólicos, feniletanoides, glucósidos de isocumarina (Warashina, 2004), también se ha encontrado gran cantidad de antraquinonas en la fracción de cloroformo (Son y col., 2006).

La actividad diurética rápida puede ser atribuida a la presencia de saponinas, flavonoides, antroquinonas (Nychapda y col., 2015) y alcaloides (Halberstein, 2012); siendo las saponinas las responsables de la modulación en la excreción renal de  $Na^+$  e induciendo diuresis (Leite, 2009).

Del mismo modo se evidenció que la *Tabebuia impetiginosa* causó acidificación e incremento de la osmolaridad en la orina (tabla 1), esto puede afectar la secreción de la ADH y reducir la capacidad de respuesta del túbulo contorneado distal (Nychapda y col., 2015); esta reducción del pH de la orina se debe a un mecanismo compensatorio, ocasionado por la alcalosis metabólica inducida por diuréticos, provocados por la pérdida de electrolitos; incrementando la secreción de  $H^+$  en el túbulo contorneado distal (Palmer, 2011).

Con frecuencia, los diuréticos presentan efectos adversos importantes como hipokalemia, hiperglicemia e hiperlipidemias, estas variaciones pueden complicar diversas condiciones patológicas (De Souza y col., 2013); la *Tabebuia impetiginosa* ha demostrado poseer efectos hipolipemiantes debido a la presencia saponinas (Leite y col., 2009), mostrando mayor seguridad en pacientes con síndrome metabólico.

La furosemida es un diurético que inhibe el transportador NKCC2 en la rama ascendente del asa de Henle, responsable de la recaptación de  $Na^+$ ,  $2Cl^-$  y  $K^+$  (Mora, 2015); del mismo modo la hidroclorotiazida, inhibe los transportadores de NCC1, responsables de la recaptación

de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> (Mendes y col., 2016); de los resultados encontrados se observa que la *Tabebuia impetiginosa*, favorece la eliminación de electrolitos mostrando un comportamiento similar a la furosemida.

De esta manera los diuréticos modulan el volumen y composición de los fluidos corporales en diversas condiciones clínicas, como la insuficiencia cardíaca, hipertensión arterial, síndrome nefrítico y cirrosis (Amuthan y col., 2012); diversas plantas han demostrado efectos diuréticos debido a la presencia de saponinas triterpenoides, los cuales son altamente solubles en agua (Leite y col., 2009). Tal es el caso de *Achillea millefolium* quienes además asocian el efecto diurético con la activación de receptores B2 de bradiquinina y la actividad de la ciclooxigenasa (De Souza, 2013). Otro mecanismo para lograr un efecto hipotensor, es mediante la vasodilatación renal y sistémica lograda por la *Echinodorus grandiflorus*, estos efectos se atribuyen a los compuestos fenólicos, principalmente a flavonoides C-glicósido (Lima y col., 2015); la *Tabebuia impetiginosa*, también presenta abundantes compuestos fenólicos que puede favorecer el efecto diurético e hipotensor. Asimismo, los biflavonoides y trehalosa presentes en *Saginella nothohybrida* favorecieron el efecto diurético moderado (Aguilar y col., 2015).

## Conclusiones

El extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa*, posee efecto diurético significativo dependiente de la dosis, provocado por la natriuresis con una baja eliminación de iones K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, y reducción del pH de la orina.

## Referencias bibliográficas

- Aguilar, M., Benitez, W., Colin, A., Bye, R., Rios, R., Calzada, F. (2015). Evaluation of the diuretic activity in two Mexican medicinal species: *Selaginella nothohybrida* and *Selaginella lepidophylla* and its effects with ciclooxigenases inhibitors. *Journal of Ethnopharmacology*. 163:167-172.
- Amuthan, A., Chogtu, B., Bairy, K., Sudhakar., Prakash, M. (2012). Evaluation of diuretic activity of *Amaranthus spinosus* Linn. aqueous extract in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 140(2):424-427.
- Arroyo, J., Rojas J. (2000). *Investigación farmacológica preclínica y clínica, métodos procedimientos e interpretación*. Perú. p89.
- Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (10 Edition ed.). Washington, D.C.: National Academy of Sciences.
- Cruz, S, J. (2007). *Más de 100 plantas medicinales*, Edit. Por: La obra social de la caja de Canarias, 1ª Edición. p19.
- De Souza, P., Crestani, S., Vilhena, R., Gasparotto, F., Leite, C. Da Silva, J, et al. (2013). Involvement of bradykinin and prostaglandins in the diuretic effects of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) *Journal of Ethnopharmacology*. 149(1):157-161.
- Gomez, J., Prieto, J., Heinrich, M. (2008). Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*)—A global ethnopharmacological commodity?. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009; 121:1-13.

- Halberstein, R. (2012). Botanical medicines for diuresis: Cross cultural comparisons. *Stud Nat Prod Chem.* 37:1-41.
- Jackson, K, E. (2012). *Diuréticos, Las Bases Farmacológicas de la terapéutica.* Goodman y Gilman, 11ª Edición, 735-765
- James, P., Oparil, S., Carte, B., Cushman, W., Dennison, C., Handler, et al. (2014). Evidence-Based Guideline for the management of high blood pressure in adults. *JAMA.* 11(5):507-520.
- Leite, L., Carvalho, P., Araujo, A., Gomes, V., Pacheco, L., Burkowski, N, et al. (2009). Effect of triterpene saponins from roots of *Ampelozizyphus amazonicus* Ducke on diuresis in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 123(2):275-279.
- Lima, T., Neris, L., Mourao, F., De Oliveira, V., Signor, C., Mera, L, et al. (2015). Ethnopharmacological investigation of the diuretic and hemodynamic properties of native species of the *Brazilian biodiversity.* *Journal of Ethnopharmacology.*174:369-378.
- Lin, B., Curhan, S., Wang, M., Eavey, R., Stankovic, K., Curhan, G. (2015). Hypertension, diuretic use, and risk of hearing loss. *The American Journal of Medicine.* 2015 IN PRESS.
- Lock de Ugaz, O. (1988). *Investigación Fitoquímica, Métodos en el Estudio de Productos Naturales.* 1ª Edición, PUCP Fondo Editorial – Lima; 97-112
- Mendes, C., Buttchevitz, A., Kruger, J., Müller, J., Oliveira, C., Oliveira, P. et al. (2016). Inclusion complexes of hydrochlorothiazide and  $\beta$ -cyclodextrin: Physicochemical characteristics, in vitro and in vivo studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences.* 83:71-78.
- Mora, R. (2015). Diuréticos. *FMC.* 22(1): 29-36.
- Nychapda, F., Kakesse, M., Tagne, M., Mbouemboue, O., Abakar, D., Dimo, T. (2015). Evaluation of the diuretic effects of crude stems bark extraction of *Zanthoxylum heitzii* (Rutaceae) in Wistar rats. *Journal of Integrative Medicine.* 13(5):326-335.
- Palmer, B. (2011). Metabolic complications associated with use of diuretics. *Seminars in Nephrology.* 31(6):542-552.
- Park, B., Lee, H., Lee, S., Piao, X., Takeoka, G., Wong, R., et al. (2006). Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology.* 105:255-262.
- Son, D., Lim, Y., Park, Y., Chang, S., Yun, Y., Hong, et al. (2006). Inhibitory effects of *Tabebuia impetiginosa* inner bark extract on platelet aggregation and vascular smooth muscle cell proliferation through suppressions of arachidonic acid liberation and ERK1/2 MAPK activation. *Journal of Ethnopharmacology.*108:148–151.

Sarmiento y col., Efecto diurético del extracto etanólico de la corteza de “guayacán” en ratas.

Warashina, T., Nagatani, Y., Noro, T. (2005). Further constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. *Phytochemistry*. 66:589-597.

Warashina, T., Nagatanin, Y., Noro, T. (2004). Constituents from the bark of *Tabebuia imetigosa*. *Phytochemistry*. 4:2003-2011.