



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales

IZTACALA - U. N. A. M.

CARRERA DE BIOLOGIA

**“ AISLAMIENTO Y ELUCIDACION DE UN
COMPUESTO CON ACTIVIDAD DIURETICA
EXTRAIDO DE Equisetum fluviatile L. ”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

YESCAS LAGUNA GERMAN



México, D. F.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Con mi más sincero agradecimiento a los integrantes del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, de la UIICSE, de la ENEP Iztacala, así como a maestros, compañeros, amigos, a todos aquellos que colaboraron en la realización de esta TESIS y muy en especial a los Biólogos:

Cárdenas Quintanilla Ma. de Jesús

Hernández Delgado Tzasa'

Osnaya Mendoza Dario Ruben

Sauceda Lopez Rene.

e Ing. Villalba Paredes Martin

Este trabajo se realizó en el laboratorio de investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria para la ciencias de la Salud y Educación (UIICSE) de la E. N. E. P. Iztacala, UNAM. bajo la dirección de la QFI. Rosa Martha Pérez Gutiérrez.

Con mis más profundo agradecimiento a mi
director de tesis Q. F. I. Rosa Martha
Pérez Gutiérrez, quien me ayudó durante
mi carrera y me formó como investigador

Con mi más sincero agradecimiento al mejor amigo, al mejor maestro, que siempre me brindo su apoyo y comprensión, mi padre.

Modesto Crescenciano Yescas
Sanchez.

"Una tabla de las seis ha
llegado a la orilla del mar a
esperar a las demás"

a mis hermanos

A mi madre que rompe todos
los momentos de monotonía y los
combiente en alegría:

Teresa Laguna Correa.

"AISLAMIENTO Y ELUCIDACION DE UN COMPUESTO CON ACTIVIDAD DIURETICA EXTRAIDO DE Equisetum fluviatile L."

RESUMEN-----

INTRODUCCION-----

- a) HISTORIA-----
- b) ANATOMIA RENAL-----
- c) FISIOLOGIA RENAL-----
- d) ESTADISTICAS SOBRE ENFERMEDADES RENALES-----
- e) DIURETICOS COMERCIALES-----
- f) MECANISMOS DE ACCION-----
- g) UBICACION TAXONOMICA Y DESCRIPCION BOTANICA DE E. fluviatile.-----

JUSTIFICACION-----

OBJETIVOS-----

ZONA DE COLECTA-----

MATERIAL Y METODO-----

RESULTADOS-----

ANALISIS DE RESULTADOS-----

DISCUSION-----

CONCLUSION-----

ANEXO OTRAS PLANTAS CON ACTIVIDAD DIURETICA-----

BIBLIOGRAFIA-----

RESUMEN

El Equisetum fluviatile L. fue colectado en los alrededores de Gerahuaro, Municipio de Zinapecuaro, Estado de Michoacán. Con la planta se preparó una infusión acuosa para verificar la acción diurética sobre ratones hembras, Cepa CD1, por vía oral y midiendo el volumen de orina excretado. Al extracto se le determinó actividad diurética, usando tres sustancias como patrón de comparación: Hidroclorotiazida, Furosemida y Espironolactona, midiendo el volumen de orina y la concentración de iones de Na(+), K(+), y Cl(-). En base a estos resultados se siguieron diferentes técnicas de separación para el aislamiento del compuesto con actividad diurética. Al compuesto obtenido se le realizó los siguientes estudio espectroscópicos: Resonancia Magnética Nuclear de protones (RMN), Espectro Infrarrojo (IR), Espectro de Luz Ultravioleta (UV), y Espectro de Masas (EM), con la finalidad de determinar su estructura química, que resulto ser un heterocíclico, compuesto por un anillo de 6 carbonos con 2 dobles enlaces y otro anillo de 4 carbonos y un nitrógeno con una doble ligadura y un grupo funcional hidroxilo (OH).

INTRODUCCION

Desde tiempos antiguos, las plantas han proporcionado al hombre los medios para curar o atenuar sus enfermedades el conocimiento de las plantas se remonta a las tribus nomadas con costumbres de cazadores y colectores, que posteriormente se convirtieron en sedentarios; ellos cultivaron algunas de estas especies, y al ingerirlas fueron descubriendo cualidades tóxicas, medicinales y alimenticias. Dichos conocimientos fueron transmitiéndose a sus descendientes ó a ciertas personas específicas tales como sacerdotes, hechiceros, curanderos etc., y con la invención de la escritura, se hicieron códices y libros donde se virtió esta información (Larriaga, A. 1979).

La farmacología es tan antigua como el hombre mismo. El primer hombre primitivo que masticó una planta y observó que le causaba diarrea, somnolencia, o algún otro transtorno, estaba ya manejando una droga. Con esta forma tan simple se han descubierto muchas drogas, algunas de las más importantes todavía en uso son: opio belladona, rawolfia, quinina, digital y curare; tales relaciones empíricas pueden llegar únicamente a las formas más elementales de terapéutica. sin embargo, el término farmacología lo debemos a los antiguos griegos. La primera parte de la palabra deriva del griego fármaco, que en lengua moderna a llegado a significar "una -

droga"; para los griegos la palabra tenía un significado quizá más místico, estaba asociado con un dios o con un ser superior que tenía el poder de ejercer efectos mágicos, no siempre benéficos, con infusiones o vapores. La última parte de la palabra proviene de logos, que significa un examen razonable o racional.

El papiro Egipcio de ERBERS 1550 AC incluye muchas preparaciones de plantas medicinales, algunas de ellas usadas todavía en forma modificada .

La primera clasificación de plantas nocivas o de sus extractos tóxicos fue elaborada por Hipócrates *450 - 375 AC* observando su comportamiento a los efectos tóxicos al ser ingeridos por el hombre. De esta forma, las plantas nocivas quedaron incluidas en dos grupos; en el primero, las plantas que al ingerirse causaban síntomas similares a los manifestados por algunas enfermedades conocidas, dándosele el nombre de plantas Homeópáticas. El segundo grupo estaba formado por plantas que hacían desaparecer síntomas específicos de algunas enfermedades descritas, nombrándolas plantas Alopáticas dándole importancia prioritaria a este último grupo (Front 1980).

Teofrasto (370 - 286 AC) hizo una contribución al establecer una descripción Botánica sistemática. Esto permitió a autores posteriores ser más sucintos

acerca de las fuentes de las drogas.

Dioscrides (siglo I DC), escribió su trabajo - titulado "Materia médica" en seis libros que comprenden los remedios de tres reinos, Animal, Vegetal y mineral; esta obra está clasificada por sustancias más que por - síndromes patológicos. (Front 1980).

Galeno (siglo II DC) fue un médico extraordina-- riamente importante que escribió prolíficamente, ex-- tendiendo el trabajo de Dioscrides, y añadiendo muchos de sus propios derivados simples. Entre estos está la - tintura de opio, llamado posteriormente Laudano por pa-- racelso.

El renacimiento hizo quizá contribuciones tan im-- portantes a la farmacología como a las otras artes y -- ciencias. Entre los trabajos más valiosos se encuentran "Ilustración y descripción de las plantas", por Leonard Fuchs, médico muy solicitado en la primera parte del si-- glo XVI, publicó un libro ilustrado de plantas medici-- nales. Debido a estos estudios, se empezó a reconocer la relación de dosis efecto; sin embargo, fue hasta fi-- nes del siglo XVIII cuando el conocimiento químico --- llegó a un punto en el cual pudo hacer contribuciones significativas a la farmacología, el primer paso fue el aislamiento en forma relativamente pura de los ingre-- dientes activos de las drogas básicas. Por ejemplo, - Friedrich Wöhler aisló la morfina del opio en 1806. Sin

embargo la estructura química exacta se conoció hasta 1923 (Drill A. 1974).

Francois Magendie (1783 - 1855) publicó en 1821 un formulario médico hecho enteramente de agentes químicos purificados, en él se encontraban alcaloides tales como emetina de la ipecacuana, la quinina de la corteza de quina y la estrignina de la Nux Vomica, etc.

En nuestro país este conocimiento tiene entrada por el norte, de tribus nomadas de origen asiático que se establecieron en nuestra región (Ansures y Bolaños 1979).

Desde el siglo XVI se cuenta con evidencias que prueban la existencia de una terapéutica empírica desarrollada y practicada por los habitantes de México Prehispanico, evidenciando también el profundo conocimiento botánico de su abundante flora, al utilizarla, clasificarla y cultivarla en sus majestuosos jardines botánicos.

Sin embargo, las plantas medicinales no eran utilizadas sólo para recobrar la salud, sino también con fines mágicos y religiosos, aspectos inseparables de las propiedades curativas que a éstas atribufan, así es como al hacer uso de estas plantas en su terapéutica medicinal, el individuo enfermo se apodera de una serie de características psíquicas espirituales que le res-

tablecían un equilibrio físico, social y divino, adquirido con la enfermedad.

Durante la colonia se presenta un choque cultural entre medicina indígena y europea dando un proceso de mestizaje * el de la propia medicina indígena y la ibérica colonial, que una y otra fueron tomando elementos de los que constitufan una novedad, incorporándolas a cada acervo respectivamente * (Anzures. Bolaños y Larriaga 1979).

De esta confluencia de medicinas resultó la medicina tradicional, que como herencia de un patrimonio teórico práctico ha llegado hasta nuestros días sufriendo una evolución en el tiempo, bajo la influencia de los cambios socioeconómicos y culturales de los diferentes grupos humanos.

No obstante, podemos distinguir dentro de la medicina tradicional aquella medicina mestiza que ha ido enriqueciéndose con aspectos foraneos practicados dentro del medio rural, así como en las grandes urbes, y aquella medicina que conserva en gran medida sus prácticas por los grupos étnicos; en ambos casos el uso de plantas medicinales es el elemento de máxima importancia a excepción de uno que otro elemento de origen animal o mineral.

A través de estudios de índole antropológico, etnográfico y etnobiológico se ha llegado a redescubrir que el conocimiento del uso tradicional de los recursos bióticos practicados en el mundo rural y en especial por los grupos étnicos, guardan una extraordinaria riqueza, una herencia antiquísima transmitida de generación en generación, que aún conservan el conocimiento de ciertas plantas como elementos curativos que traducen en sus prácticas terapéuticas, la forma de obtener y preparar sus medicamentos así como ciertas creencias particulares tales como el concepto enfermedad y salud propias de su cultura (Viesca, T. 1976).

El enfoque más reciente en química orgánica, o sea el de los estudios de la estructura electrónica y espacial de los compuestos orgánicos, promete aún mayores contribuciones al campo farmacológico, y tales estudios hacen posible una interpretación más completa de las relaciones de la estructura química con la actividad biológica (Drill, A. 1974).

APARATO URINARIO

La nefrona es la unidad estructural y funcional del riñón, que se describirá posteriormente. Los riñones son dos estructuras en forma de habichuela, localizados dorsalmente a nivel de las vértebras lumbares superiores; el del lado izquierdo casi siempre un poco más alto que el derecho, alcanzando el nivel de la undécima costilla. La muesca o hendidura que da a este órgano forma de habichuela es el hilio, a través del cual pasan la arteria y vena renales.

A nivel del Hilio de cada riñón, por detrás de los vasos sanguíneos, se encuentra el uréter, que drena la orina de la porción interna del riñón (la pelvis) a la vejiga urinaria. Los riñones están rodeados por una cápsula de tejido adiposo cuya grasa actúa como capa protectora y ayuda también a mantener el riñón en su lugar. Cuando una persona obesa pierde una gran cantidad de peso, el riñón puede deslizarse desde su posición a tal grado, que a veces bloquea el paso de la orina por compresión del ureter. La vejiga urinaria se encuentra en la parte posterior e inferior de la cavidad pélvica. Detrás y por encima del pubis. Las tres aberturas de la vejiga forman un triángulo en su pared posterior; dos de ellas son las entradas de los uréteres, y la tercera la salida de la uretra. La uretra es el conduc-

to final a través del cual la orina se dirige de la vejiga al exterior, con una longitud de 7 cm. en la mujer y de 16 cm. en el hombre (strand, F. 1982).

La vejiga urinaria, los uréteres y la uretra son todas estructuras musculares revestidas por una membrana mucosa de epitelio de transición impermeable a sustancias solubles normales de la orina, y por tejido conectivo que contienen vasos sanguíneos y fibras elásticas (figura No. 1).

La porción terminal de la uretra se halla cubierta de epitelio escamoso estratificado. La capa muscular de la vejiga es sumamente fuerte, y al nivel del punto de salida de la uretra, las fibras musculares lisas forman dos anillos, los esfínteres urinarios.

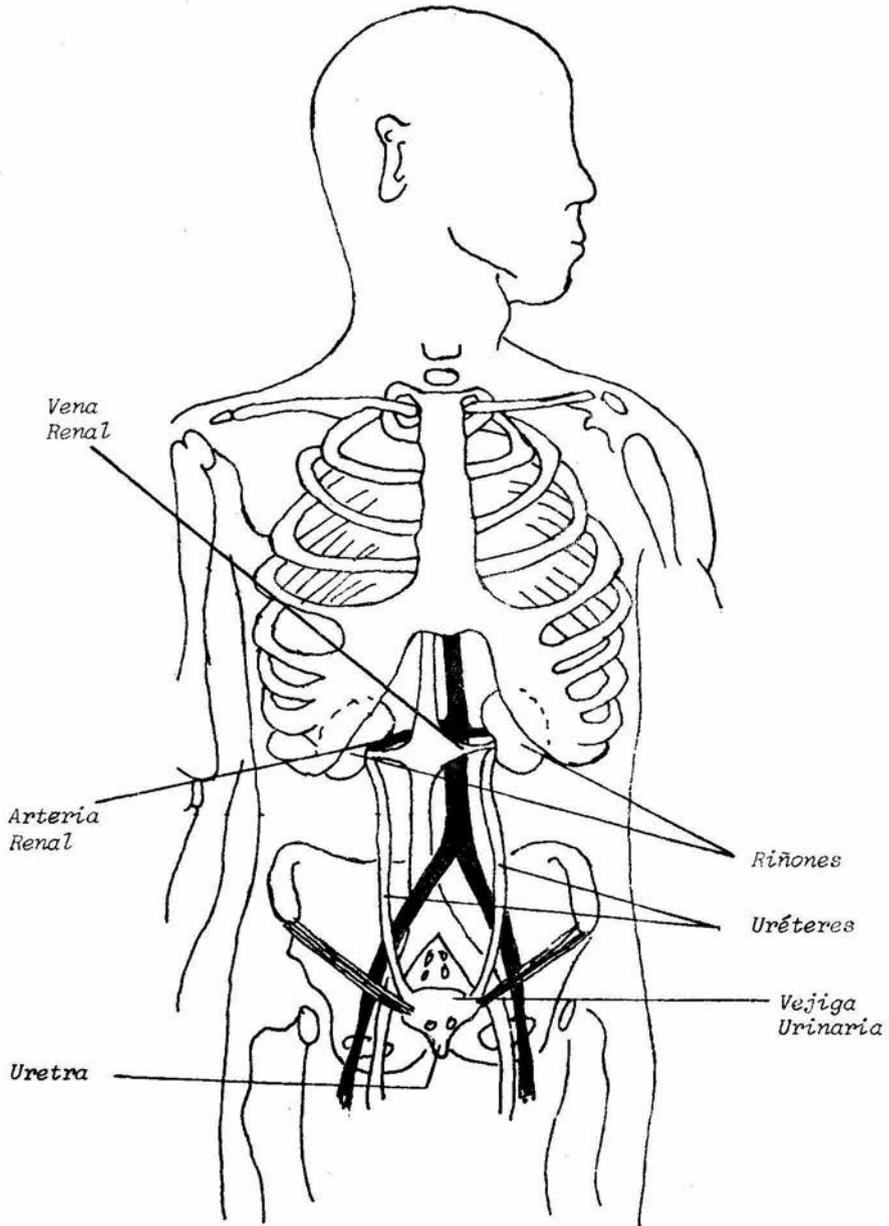


figura No. 1 Ubicacion del aparato urinario.

Nefrona, La unidad estructural y funcional del riñón es la nefrona. Existente en cada riñón humano aproximadamente un millón de nefronas y la longitud individual es de 30 a 38 mm. Las nefronas se hallan dispuestas de manera ordenada en las dos zonas del riñón, esto es, la corteza externa y la médula central. La zona más profunda del riñón es la pelvis, la cual conecta la médula con el uréter. Hacia la médula la pelvis forma cavidades o receptáculos llamados calices mayores, los que a su vez se subdividen en cálices menores.

La nefrona esta compuesta por el glomerulo y los tubos, los que forman un sistema continuo que modifica el filtrado producido por el glomérulo y transportan -- este liquido modificado hacia la pelvis renal. Las diversas partes de la nefrona tienen características estructurales funcionales diferentes (figura No. 2).

Glomerulo. Los riñones reciben el mayor flujo sanguíneo en proporción a su peso (20 a 25% del gasto cardiaco en reposo), que cualquier órgano del cuerpo. La sangre es transportada al riñón por las arterias renales, cada una de las cuales forman ramas que finalmente se dividen en la arteria interlobulillar, que se subdivide para suministrar sangre a los glomérulos a través de las arteriolas aferentes.

El glomérulo está formado por la ramificación de

la arteriola aferente en un penacho interconectante de capilares, el cual esta contenido de una membrana de doble capa en forma de copa formada por una gran muesca o depresión del extremo ciego del túbulo contorneado proximal conocida como cápsula la renal o de Bowman.

Cápsula de Bowman. Posee dos hojas, una interna adosada a los capilares y otra formando dos límites de corpúsculos de Malpighi (glomérulo), entre las capas existe un espacio capsular que recibe el líquido filtrado a través de la pared de los capilares del glomérulo y de la hoja visceral. La hoja externa o parietal de la cápsula de Bowman está constituida por un epitelio pavimente simple que se apoya en la membrana basal y una capa muy fina de fibras reticulares. Mientras que la hoja externa mantiene su morfología epitelial, las células de la hoja interna o visceral se modifica durante el desarrollo embrionario adquiriendo características propias; estas células se dominan podocitos.

Túbulo contorneado proximal. El comienzo del túbulo contorneado proximal es la continuación de la cápsula de Bowman, pero el epitelio cambia de aplanado a cúbico alto, cuyas células son muy complejas; debajo del epitelio basal se aprecian muchas endiduras invaginadas que se abren en el espacio extracelular en la porción inferior de la membrana basal. Estas invaginaciones,

junto con microvelocidades que forman un borde en cepillo sobre el lado luminar, crean una extensa superficie celular, esencial para la notable capacidad de reabsorción del tubulocontorneado. Este túbulo forma un espiral regular en la veacindad del glomérulo, y despues se proyecta en línea recta hacia la médula para formar la rama descendente del asa de Henle.

Asa de Henle. Esta consta de un túbulo descendente de pared delgada que adopta forma de orquilla muy curva en el tercio superior de la médula para las nefronas corticales, y más profundas tambien en la médula para las nefronas yuxtamedulares. Poco después de la curvatura, la rama ascendente es delgada, pero cerca de la corteza se ensancha y engruesa, y a nivel de su propio glomérulo se convierte en el túbulo contorneado distal.

La transición entre el túbulo proximal y el asa de Henle puede ser brusca o gradual habiéndose células planas intercaladas con células cúbicas con ribete en cepillo. La estructura de la parte ascendente de la asa de Henle es igual al túbulo contorneado distal estando formado por epitelio cúbico simple (Roos, M. 1970 y Strand F. 1982).

Tubulo contorneado distal. Es el último segmento de la nefrona, comienza con una estructura en espiral con epitelio cúbico, y al acercarse al corpusculo de Malpighi de la misma nefrona, la pared del túbulo dis-

tal se modifica: sus células se vuelven cilíndricas altas, y como la de los túbulos contorneados poseen núcleos alargados y próximos entre sí.

Tubulos colectores. En la corteza, cada túbulo colector drena un número creciente de conductos derivados de tubulos contorneados distales y descienden a lo largo de la médula para formar los conductos colectores de Bellini, que finalmente desaguan en la pelvis renal por vía de los cálices. Las células del túbulo colector son cilíndricas altas, y como la de los túbulos contorneados la permeabilidad y extensión de los espacios intercelulares son controlados por la hormona antidiurética.

NEFRONA CORTICAL Y YUXTAMEDULAR

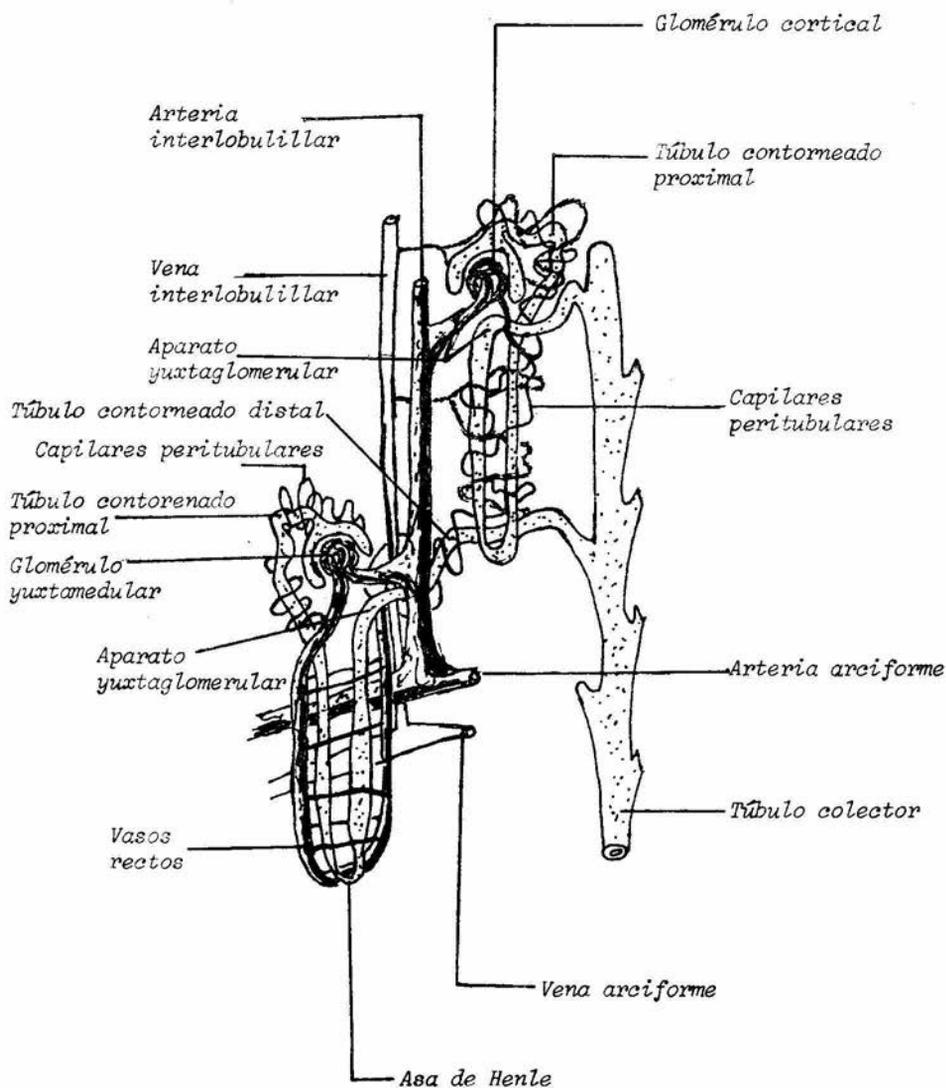


figura No. 2 Anatomía de la nefrona.

Aparato Yuxtaglomerular. A medida que la rama ascendente del asa de Henle regresa a su propio glomérulo, toma estrecho contacto con el mismo. Las células de la arteriola aferente y del túbulo son completamente distintas de las que existen en áreas vecinas, y todas juntas forman el aparato yuxtaglomerular. Esta relación íntima entre los elementos tubulares y vasculares reflejan una relación funcional (Ross M. 1970 y Strand, F. 1982).

La estructura del glomérulo permite que éste actúe como dispositivo de ultrafiltración; el líquido capsular presenta una composición idéntica a la del plasma con respecto al agua y solutos de bajo peso molecular. Los túbulos renales absorben la mayor parte del ultrafiltrado formado por los glomérulos, incluyendo algunos de sus constituyentes más valiosos, por procesos de transporte activo y pasivo; como consecuencia, muchos componentes filtrables del plasma no se encuentran en la orina.

El líquido tubular es isotónico con respecto al plasma, indicando que son reabsorbidos electrolitos y agua a ritmos osmóticamente idénticos. La velocidad del transporte del agua es siempre proporcional a la del transporte de soluto, esto es, la reabsorción de agua es un proceso pasivo que responde osmóticamente al transporte activo de sales de sodio, las más importan-

tes son el NaCl y NaHCO_3 . El Na (+), el Cl (-), y HCO_3 son reabsorbidos activamente en el túbulo contorneado proximal, casi todo el $\text{K}^{(+)}$ filtrado es reabsorbido en el túbulo contorneado, el potasio encontrado en la orina escretado por el túbulo contorneado distal (figura No. 3).

La urea es el soluto más importante presenta en el filtrado glomerular que debe ser concentrado como resultado de la reabsorción del líquido. Como es difusible cerca del 40% de la urea filtrada es reabsorbida pasivamente a través del epitelio del túbulo contorneado proximal. La cantidad reabsorbida varía ampliamente con intensidad del flujo urinario y es reducida cuando disminuye dicho flujo.

El líquido tubular que abandona la rama ascendente del asa de Henle cerca de la corteza o nivel de la misma penetra en el túbulo contorneado distal es hipotónico con el plasma, pero por otra parte no ha experimentado cambio alguno a través de su paso a lo largo del asa Henle. Sin embargo, la porción más profunda de la médula es considerablemente hipertónica con el plasma; de hecho, existe un gradiente de concentración de sodio que aumenta desde la corteza interior de la médula. La función del asa de Henle consiste en establecer este gradiente de concentración, la de los vasos rectos que rodean el asa y la de los túbulos colectores utilizan

el gradiente para producir orina concentrada.

Formación de la orina hipertónica. En las ramas del asa de Henle puede establecerse una pequeña diferencia de concentración osmomolar de 200 miliosmoles/litro entre contenido líquido de las dos ramas en cada nivel de la médula, lo cual se logra por el transporte de cloruro de sodio desde la rama ascendente hacia el intersticio circundante de la médula; se establece de manera gradual un nuevo equilibrio osmótico entre el intersticio de cada nivel de la rama. En consecuencia, el líquido de la rama ascendente se torna cada vez más diluido a medida que se acerca a la corteza. Por otra parte, el líquido de la rama descendente y el intersticio se torna de manera simultánea y dependientemente

más concentrado hacia la profundidad de la médula con desarrollo de un gradiente de concentración de 300 a 1200 miliosmoles / litros desde la corteza a la médula.

Los iones cloruro son transportados activamente fuera de la gruesa rama ascendente y hacia el intersticio, estableciendo una diferencia de potencial a través de la células tubulares de 5 a 8 milivolteos, positivo sobre el lado luminal.

Este potencial es la fuerza que dirige el movimiento asociado de los iones de sodio fuera del túbulo. La alta permeabilidad al sodio de las células tubulares,

junto con la baja resistencia eléctrica contribuyen al consumo para que el transporte pasivo del sodio sea un proceso sumamente eficaz.

Este proceso utiliza el gasto de energía metabólica para el bombeo activo de cloruro por la rama ascendente. Tal proceso depende también de la diferencia de permeabilidad entre las dos ramas del asa de Henle; en efecto, si la rama ascendente fuera libremente permeable al agua, su contenido sería diluido con gran rapidez. Por otra parte, las paredes del túbulo ascendente deben ser permeables al sodio y al cloruro, por lo tanto es preciso dejar definido que el túbulo descendente debe ser libremente permeable al agua y al cloruro de sodio, de modo que pueda ser creado un nuevo equilibrio osmótico con el intersticio a medida que fluya el líquido hacia la profundidad de la zona medular (Strand, F. 1982).

En su trayecto en forma de orquilla a través de la médula, el asa de Henle ha establecido un gradiente de concentración desde la corteza (isotónico con el plasma) a la médula (hipertónico). La sangre de los vasos rectos sigue el mismo curso que las asas de Henle de las nefronas yuxtamedulares, esto es, queda expuesta al mismo gradiente de concentración, entra al intersticio y debido a que las paredes de los vasos rectos son permeables al agua y al cloruro de sodio, la concentración

de la sangre refleja el intersticio en todos los niveles de la médula. Este proceso es un intercambio osmótico pasivo entre el intersticio y los vasos estrechamente yuxtapuestos, con flujo líquido en direcciones opuestas. Este intercambio de contracorriente mantiene el gradiente osmótico establecido por el multiplicador de contracorriente del asa de Henle.

A medida que el líquido hipotónico de la rama ascendente pasa por el túbulo contorneado distal, se torna gradualmente isotónico en el intersticio cortical. El volumen de líquido que entra en el túbulo contorneado distal es sólo el 15% del correspondiente al filtrado. Sin embargo, este volumen varía según la hormona anti-diurética circulante, la cual afecta la permeabilidad al agua de las células epiteliales del túbulo contorneado distal y según el nivel de aldosterona que afecta su reabsorción de sodio. Como el agua sigue pasivamente la reabsorción de sodio, la tonicidad del líquido en el túbulo contorneado distal refleja la del intersticio cortical y así llega al túbulo colector esencialmente isotónica con el plasma. La principal función del túbulo colector consiste en producir orina hipertónica a partir del líquido isotónico que llega al mismo. Existe un equilibrio entre el líquido del túbulo y la médula, exactamente igual a la que se observa en el asa de Henle.

Sin embargo, en el túbulo colector no existe un mecanismo de contracorriente, sino un establecimiento pasivo de equilibrio osmótico; no tiene lugar bombeo activo, y el líquido que abandona el túbulo colector entra en la pelvis renal aproximadamente a la misma concentración de la que existe en la profundidad de la médula.

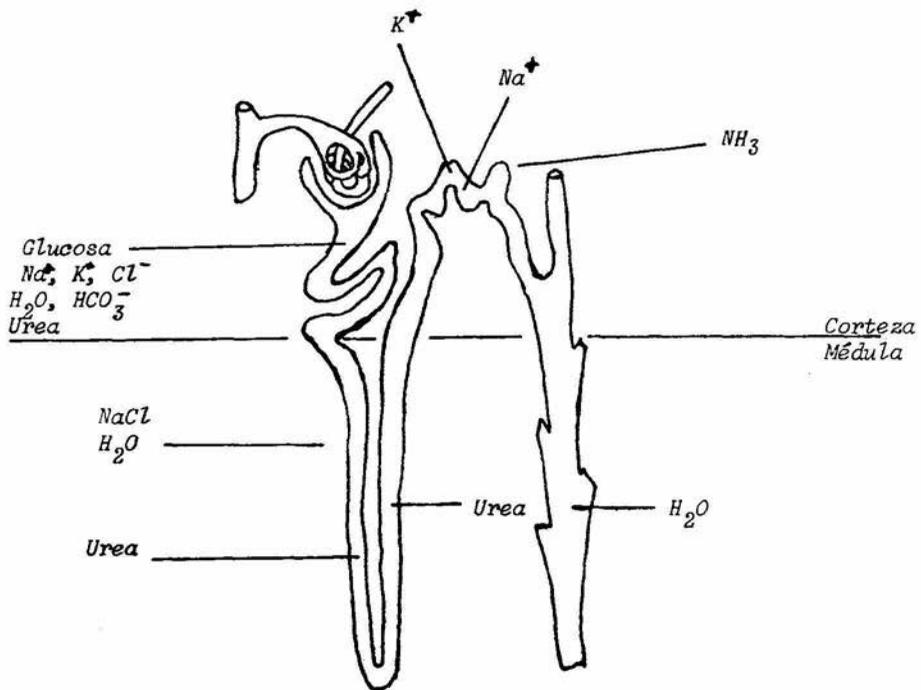


figura No. 3 reabsorción de agua y electrolitos en la nefrona

ESTADISTICAS SOBRE ENFERMEDADES RENALES

Las enfermedades más comunes del aparato urinario son: nefritis, nefrosis, síndrome nefrótico y cálculos renales. La mayoría de éstas son causa de muerte como se presenta en los siguientes datos estadísticos (Secretaría de Programación y presupuesto 1984).

NEFRITIS,NEFROSIS Y SINDROME NEFROTICO

ARO	NO. EN ORDEN DE IMPORTANCIA	DEFUCIONES	INSTITUCION
1980	8	4489	ISSSTE
	18	269	PEMEX
	20	69	SM DIF
1981	9	4704	ISSSTE
	20	249	PEMEX
1982	8	5316	ISSSTE

NEFRITIS,NEFROSIS Y SINDROME NEFROTICO

ARO	NO. EN ORDEN DE IMPORTANCIA	DEFUCIONES	TASA
1977	17	4481	0.07
1978	16	4521	0.06
1979	14	6899	0.1
1980	11	7068	0.1

*NEFRITIS, NEFROSIS Y SINDROME NEFROTICO
APARICION POR EDADES*

ARO	NO. EN ORDEN DE IMPORTANCIA	DEFUCIONES	TASA
a) EN MENORES DE UN ARO			
1977	14	251	0.11
1978	13	206	0.09
1979	13	272	0.11
1980	11	306	0.13
b) DE UNO A CUATRO AÑOS			
1977	15	187	2.19
1978	15	158	2.06
1979	14	215	2.46
1980	14	171	1.91
c) DE 5 a 14 AÑOS			
1977	17	160	0.88
1978	12	177	0.94
1979	13	202	1.03
1980	10	200	1.00
d) DE 15 a 24 AÑOS			
1977	15	249	1.99
1978	13	261	2.01
1979	11	312	2.32
1980	10	294	2.11

e) DE 25 a 34 AÑOS

1977	16	237	2.98
1978	15	225	2.74
1979	12	338	4.01
1980	11	307	3.05

f) De 35 a 44 AÑOS

1977	15	303	5.33
1978	15	312	5.32
1979	15	406	6.71
1980	12	433	6.96

g) DE 45 a 54 AÑOS

1977	13	458	12.23
1978	13	451	5.79
1979	12	662	16.34
1980	10	668	15.90

h) DE 55 a 64 AÑOS

1977	13	554	23.15
1978	13	668	27.08
1979	11	879	34.58
1980	17	1005	34.48

i) de 65 AÑOS EN ADELANTE

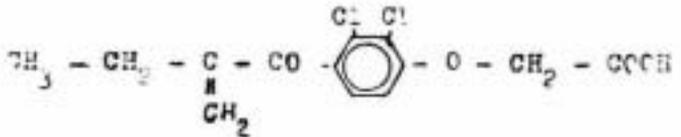
1977	10	2053	83.24
1978	10	2041	82.51
1979	8	3531	137.47
1980	7	3677	137.97

TASA 1: 100 000 HABITANTES.

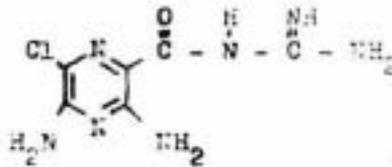
Los fármacos más utilizados para la movilización del agua y electrolitos son los siguientes (Squib, E. 1984).

ACIDO ETACRINICO

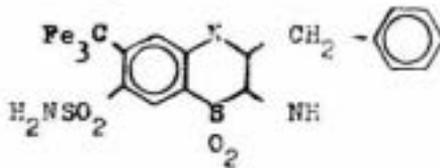
Derivado del ácido
fenoxiacético



AMILORIDE

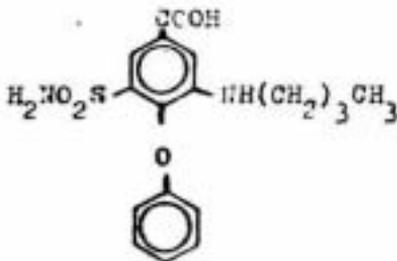


BENDTOFLUMETAZIDA

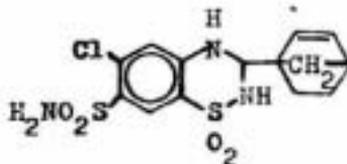


BUMETAZIDA

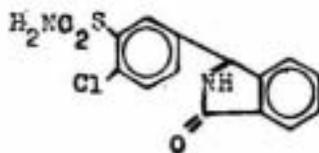
Derivado del ácido
3-aminobenzoico



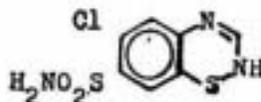
CICLOTIZIDA



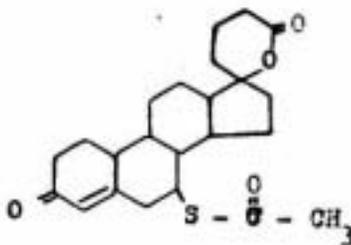
CLORTALIDION



CLOROTIAZIDA *

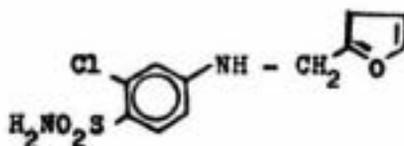


ESPIRONOLACTONA *

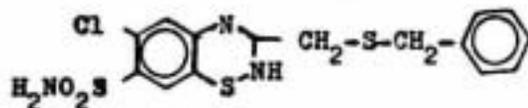


FUROSEMIDA *

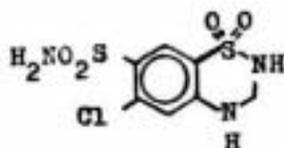
Derivado del ácido
antranílico



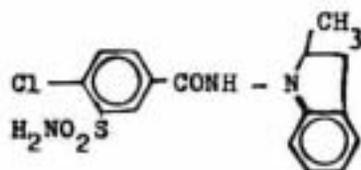
HIDROCLOROTIAZIDA



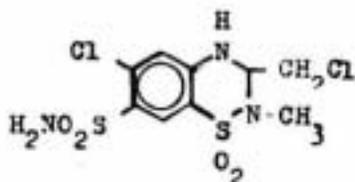
HIDROCLOROTIAZIDA



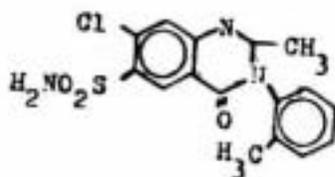
INDAPAMIDA



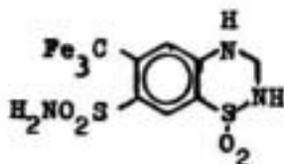
METICLOTIAZIDA



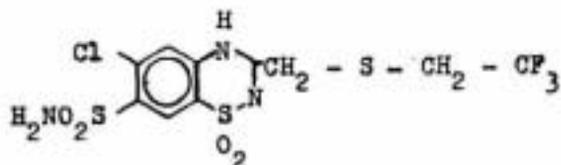
METALOZONA



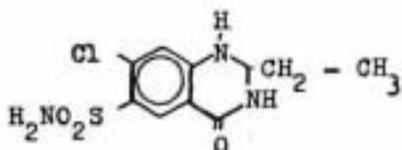
HIDROFLUMETIAZIDA



POLITIAZIDA

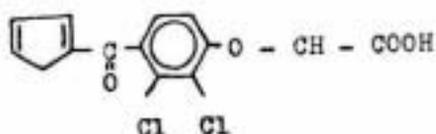


QUINETAZONA



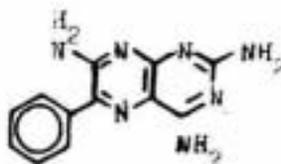
TICRINAPEN

Acido tienílico
derivado del ácido
fenoxiacético

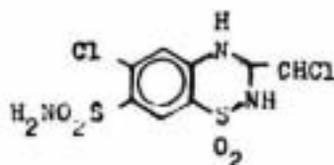


TRIAMTEREND

Derivado de la
pteridina



TRICLOROMETIAZIDA



* Fármacos utilizados en este trabajo.

MECANISMOS DE ACCION DE HIDROCLOROTIAZIDA Y SIMILARES (figura No. 4).

1. Actúan directamente sobre el riñón al bloquear la reabsorción del Na (+) y Cl (-) a nivel del túbulo contorneado distal de la nefrona; como consecuencia:

a) Aumenta la excreción de Na (natriuresis) de Cl (cloruresis) y de agua.

b) La natriuresis provoca un aumento de la excreción de bicarbonato y de potasio (Kaliuresis).

2. Reducen la velocidad de filtración glomerular, posiblemente por su acción directa sobre los vasos renales.

3. Aumentan la excreción renal de I, Br, Mg y 5-hidroxitriptamina (5-HT).

4. Disminuyen la excreción de Ca(++), urea, creatinina y ácido urico.

EFFECTOS COLATERALES INDESEABLES: Hipocalemias - (21-50%), Hiperuricemia (30-60%) Ocasionales: Hipotensión ortostática, dolor torácico, disnea, cafolea cansancio, depresión, tinnitus, vértigo, náusea, flatulencia, sequedad de boca, hiponatremia, deshidratación hiperglucemia, pancreatitis, debilidad, calambres, trastornos de la visión, pérdida de la libido, exantemas, petequias, artralgia, fiebre.

Usos la hidroclorotiazida y diuréticos similares están indicados:

1. En la hipertensión arterial leve, moderada grave,

como parte integrante de la mayoría de asociaciones de dos o más fármacos antihipertencivos.

2. En el edema asociado a la insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, nefropatías (síndrome nefrótico, glomerulonefritis aguda, insuficiencia renal crónica) y a la terapéutica con corticoesteroides o estrógenos.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS FUROSEMIDAS Y SIMILARES

1. bloquea la reabsorción de Na Cl en:

a) la rama ascendente del asa de Henle de la nefróna sin manifestar efecto alguno sobre la anhidraza carbónica o al dosterona.

b) los túbulos contorneados distal y proximal

2. Secundariamente, provoca un aumento en la excreción de K (kaliuresis) y de agua (presión de volumen).

3. Aumenta la excreción renal de Mg, Ca y 5-HT.

4. reduce la excreción renal de fosfato y ácido úrico.

EFFECTOS SECUNDARIOS INDESEABLES:

Ocasionales (0.1 a 5%) disminución del volumen, hipotensión, hipocloremia, azotemia, alcalosis metabólica, trastornos gastrointestinales, exatemia, arritmias cardíacas, trastornos del SNC, hipoglucemia, náuseas, vómito, diarrea, dolor torácico, edema y embolia.

USOS

1. Furocemidas y similares no son el tratamiento diurético de elección de los pacientes con hipertensión arterial leve o moderada no complicada.

2. No obstante dichos fármacos están implicados en:

a) Asociación con otros antihipertensivos cuando esta alterada la función renal (hipertensión con azotemia).

b) Cuando la hipertensión arterial se a vuelto refractaria al componente tiazídico (hidroclorotazida y similares), de un régimen con varios agentes antihipertensivos asociados.

c) Las crisis hipersensitivas.

MECANISMO DE ACCION DE LA ESPIRONOLACTONAS

1. A nivel del túbulo contorneado distal de la nefrona inhiben la reabsorción del Na y el agua, a la vez que evitan la pérdida de K, de la siguiente manera:

a) antagonizando la acción de la aldosterona, al fijarse en forma competitiva a los receptores de la aldosterona por la que altera el intercambio del Na por el K.

b) actúan directamente en el lugar de intercambio del Na por el K (en el caso del triamtereno y el amiloride).

2. La espiroloctona y similares se diferencian fundamentalmente de los diuréticos anteriormente en que

retienen K.

EFFECTOS SECUNDARIOS INDESEABLES:

a) frecuentes: hipercalemia, fatiga, letargia, irritación gastrointestinal, ginecomastía.

b) Ocasionales: náuseas, vómito, diarrea, cólicos abdominales, deshidratación, disminución de la líbido, impotencia en el varón, amenorrea, trastornos menstruales, voz varonil en la mujer y fiebre.

USOS

1. Las spironolactonas y sus similares están indicados en:

a) La hipertención arterial esencial, moderada y grave, particularmente asociados a diuréticos tales como hidroclorotiazida y similares, cuando se trata de evitar una hipocalemia.

b) La hipertensión arterial esencial, moderada y grave en pacientes diabéticos o con gota, en los cuales otros diuréticos puede agravar la hiperglucemia o la hiperuricemia.

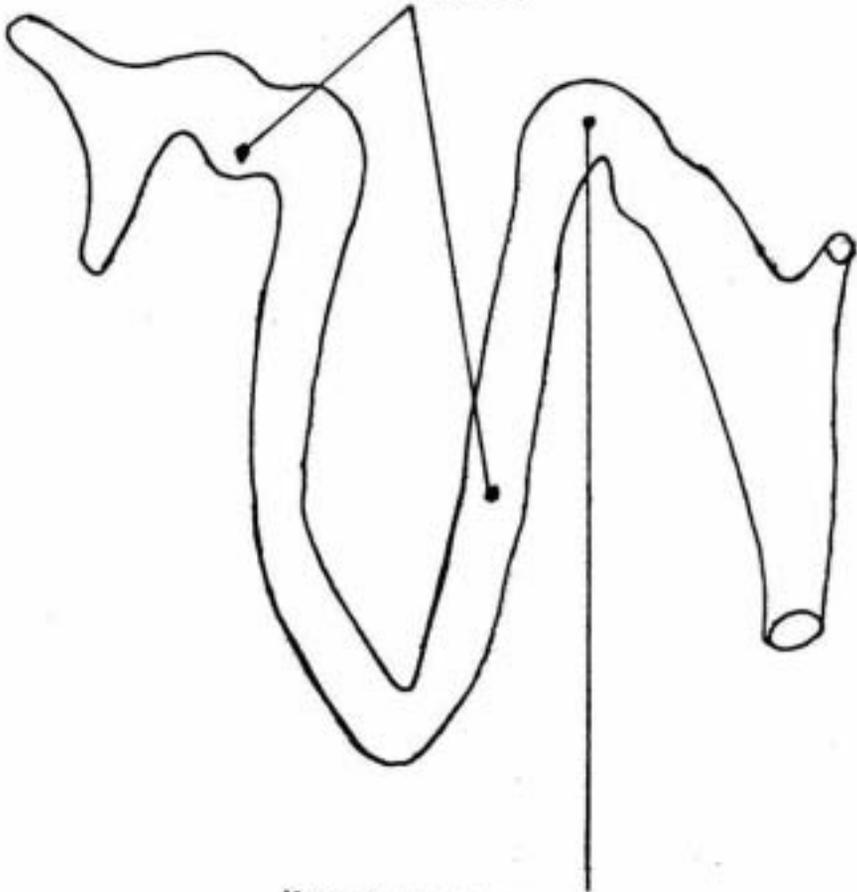
2. La espironolactona está indicada además en :

a) La hipertensión arterial secundaria asociada al aldosterismo primario.

b) La hipertensión arterial en pacientes con aldosterismo secundario (por insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, con ascitis y edema, edema idiopático)

Mecanismos de acción de Furocemidas y

sus similares



Mecanismos de acción de Espironolactonas
e Hidroclorotiazidas y sus similares.

Figura No 4 Mecanismos de acción espironolactona, furosemidas Hidroclorotiazidas y sus similares.

UBICACION TAXONOMICA Y DESCRIPCION BOTANICA DE E. flu-
viatile L.

REINO_____Plantae
GRUPO_____Arthropyta
DIVISION_____Artrropsida
CLASE_____Equisetales
SUBORDEN_____Equisetinea
FAMILIA_____EQUISETACEAE
GENERO_____Equisetum
ESPECIE_____E. fluviatile

Bold (1980)

DESCRIPCION BOTANICA DEL E. fluviatile L.

Los Equisetos son conocidos comúnmente como cola de caballo. El tallo de Equisetum es verde fotosintético de menos de 3 cm de grueso, está claramente articulado, con un verticilio de hojas pequeñas angostas en cada articulación. La parte basal de cada nudo es meristemática, el tejido meristemático consiste de células de pared delgada y lisas, los tallos pueden separarse fácilmente a nivel de los nudos, los tallos tienen crestas y surcos longitudinales, las crestas y los surcos tienden a alternar en entrenudos sucesivos. Cada hoja está alineada directamente con una cresta del entrenudo que se encuentra debajo (Hauke, R. 1983).

El tallo está diferenciado en epidermis, corteza, endodermis y cilindro central interrumpido en cada nudo por un diafragma meristemático delgado. Además de la cavidad central, el tallo tiene generalmente dos anillos de cavidades longitudinales llamados canales carinales y canales valecurales.

Las hojas de verticilio están unidas por sus márgenes laterales y forman una vaina alrededor del tallo; las puntas de las hojas generalmente están separadas unas de otras, por lo que la vaina es desdentada en el ápice. Los esporangióforos están dispuestos en verticilios en un estróbilo terminal (figura No. 5).

E. fluviatile presenta tallos con verticilios regulares de ramas, estomas dispuestos en una línea, doble endodermis, tallos ramificados, dientes persistentes, canal central de los internodos del tallo muy anchos de más de las $4/5$ partes del diámetro total del internodo, canales carinales pequeños sin canal valecular excepto en la base.

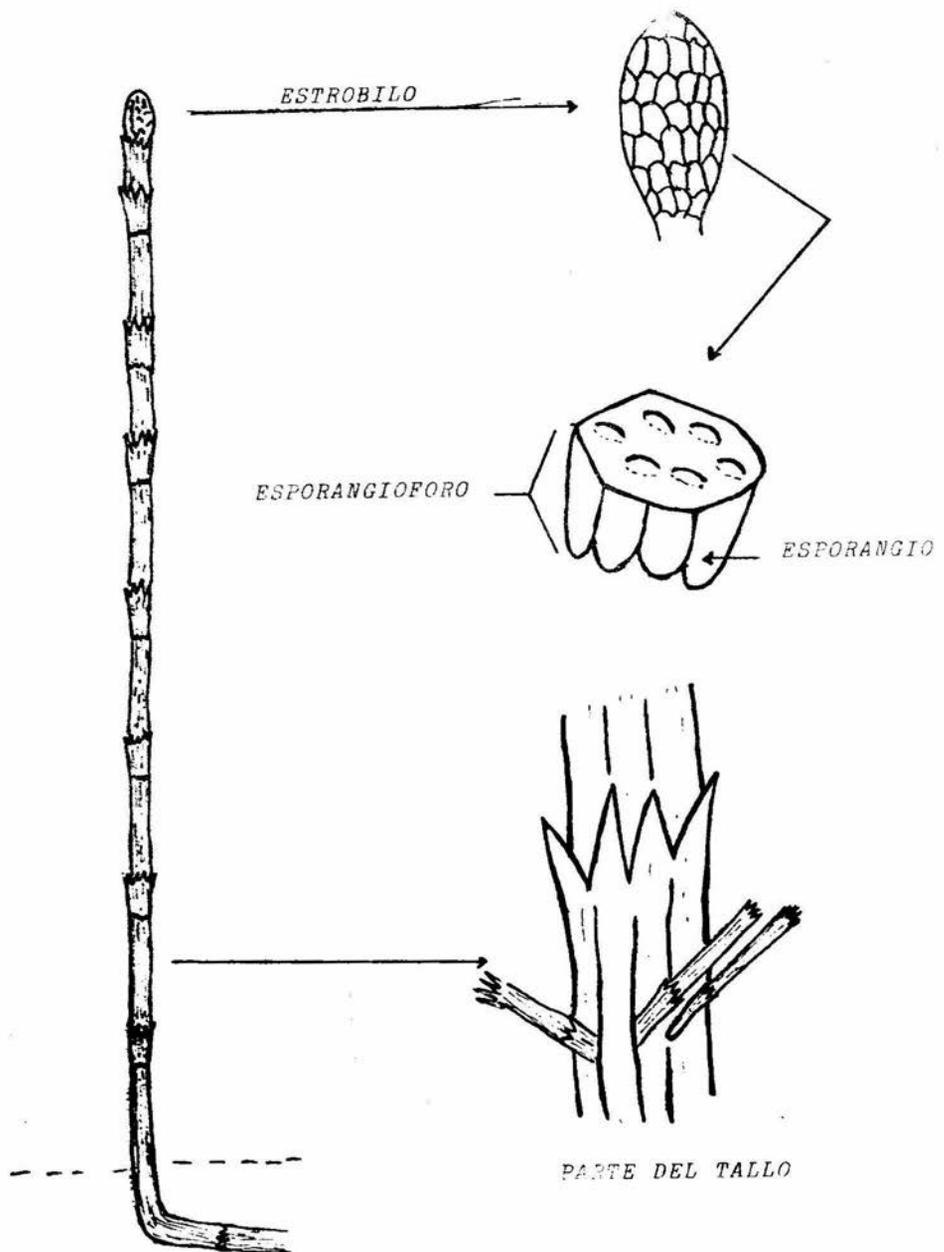


figura No. 5 REPRESENTACION DE Equisetum fluviatile

JUSTIFICACION

Se sabe que una gran cantidad de plantas presentan actividad farmacológica, y que nuestro pueblo las ha utilizado desde épocas precortesianas en forma de tés (infusiones), fomentos y cataplasmas para poner remedio a sus enfermedades. Se han realizado estudios para verificar la acción farmacológica y en la mayoría de los casos se han obtenido resultados positivos. Dado ésto y con la ayuda de la etnobotánica, apareció el nuevo campo de la etnofarmacología; en años recientes se formó la asociación internacional de la medicina tradicional y folklórica (Primer Congreso Internacional de Medicina Tradicional y Folklórica en Cuernavaca, edo. de Morelos 1983).

Las personas que utilizan estas plantas como remedios caseros informaron sobre el uso de la cola de caballo (equiseto) para el tratamiento de algunas enfermedades de los riñones como son: litiasis (cálculos) glomerulonefritis, etc. El museo de la Herbolaría de Cuernavaca, Edo. de Morelos tiene registrado al Equisetum con propiedades DIURETICAS, y libros sobre plantas medicinales corroboran esta información. Según Aya Nita (1977), la cola de caballo en Asia es tóxica, pero en otros lugares los equisetos se han utilizado desde la época precortesiana como diuréticos, astringentes, y para dar brillo a utensilios de cobre.

Según Dioscorides (Front 1980) la actividad diurética es debido al ácido sílico que contiene la planta; otros autores proponen la posibilidad de que se trate de un flavonoide o un terpeno. Dado lo anterior, es importante verificar su acción diurética, aislar y elucidar la estructura de compuesto responsable de la acción farmacológica del equiseto, ya que con esto es posible llevar a cabo una síntesis química de la molécula para realizar pruebas de toxicidad y farmacodinamia; si estas pruebas proporcionan resultados satisfactorios para ser aplicados en la terapéutica de enfermedades renales, esta síntesis puede reeditar la producción a nivel industrial sin destruir la fuente natural, además de que con este tipo de investigación se aumenta el acervo de la etnofarmacología.

OBJETIVOS

1. DEMOSTRAR LA ACCION DIURETICA DEL *E. fluviatile* L.
2. HACER UNA COMPARACION DE LA ACTIVIDAD DEL EXTRACTO DIURETICOS COMERCIALES.
3. AISLAR Y ELUCIDAR LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO RESPONSABLE DE LA ACCION DIURETICA.

DESCRIPCION DE LA ZONA DE COLECTA

Geráhuaro, Municipio de Zinapécuaro, Edo. de Michoacán

PARAMETROS

19°53' Latitud Norte

100°39' Longitud Oeste

Altitud promedio 2400 metros sobre el nivel del mar. -

Suelo terracerías; tipo de roca, sedimentaria y tobas volcánicas. Unidades geológicas, material ígneo, rocas sedimentarias, aluviones.

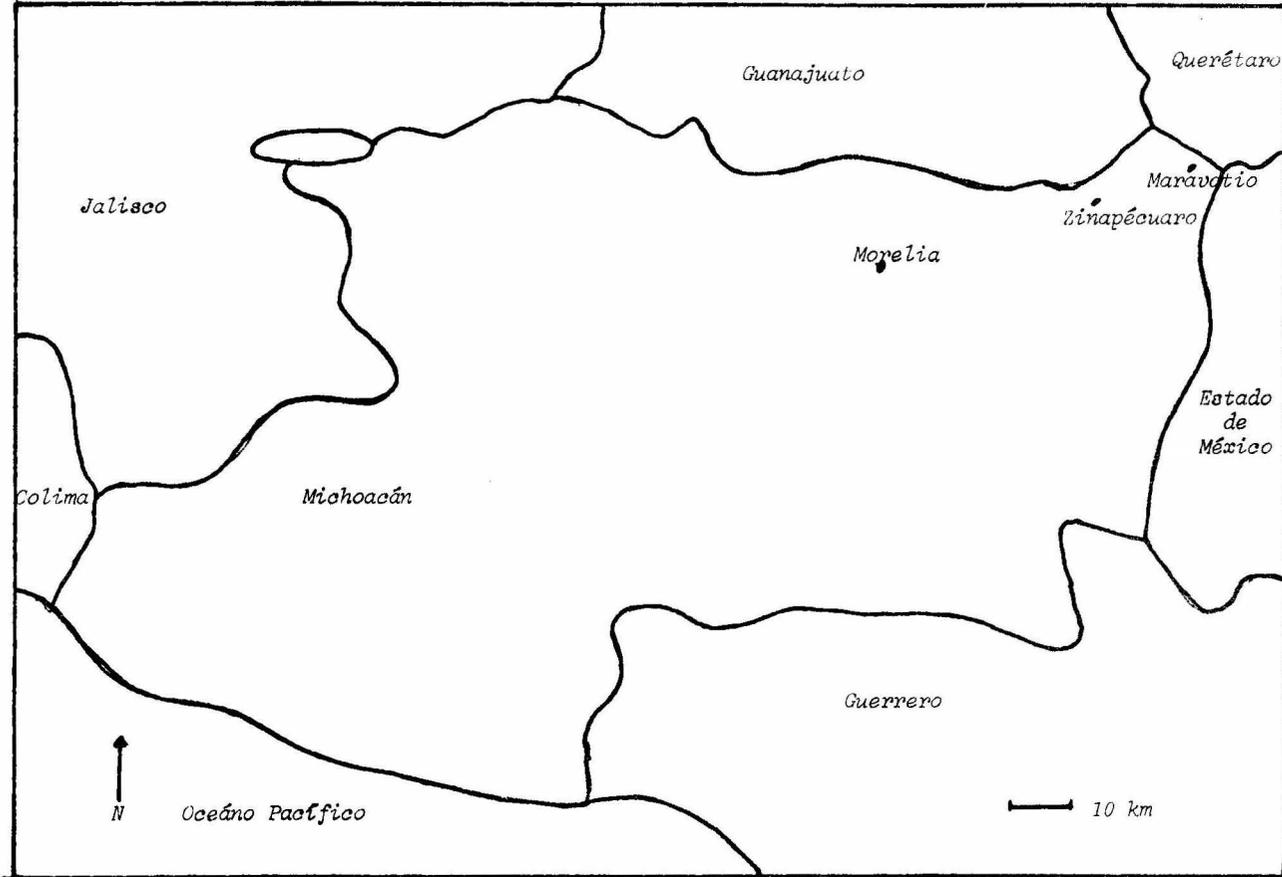
Edafología unidades del suelo; Lubisoles órticos, Lubisoles crómicos de textura mediana poco profundo.

Bosques de encino y quercus en barrancas, la mayor parte del área son de árboles frutales, agricultura de temporal y pastizales inducidos DETENAL(1979).

Según la climatología de Kopen modificada por García es: (A) (wo) (w) b (e) g (García, E. 1973). Clima semicálido con temperatura media de 16°C y precipitación media anual de 700ml con lluvias de verano con temperatura del mes más cálido entre 6.5 y 22°C, extremos con oscilación térmica entre 7 y 14°C.

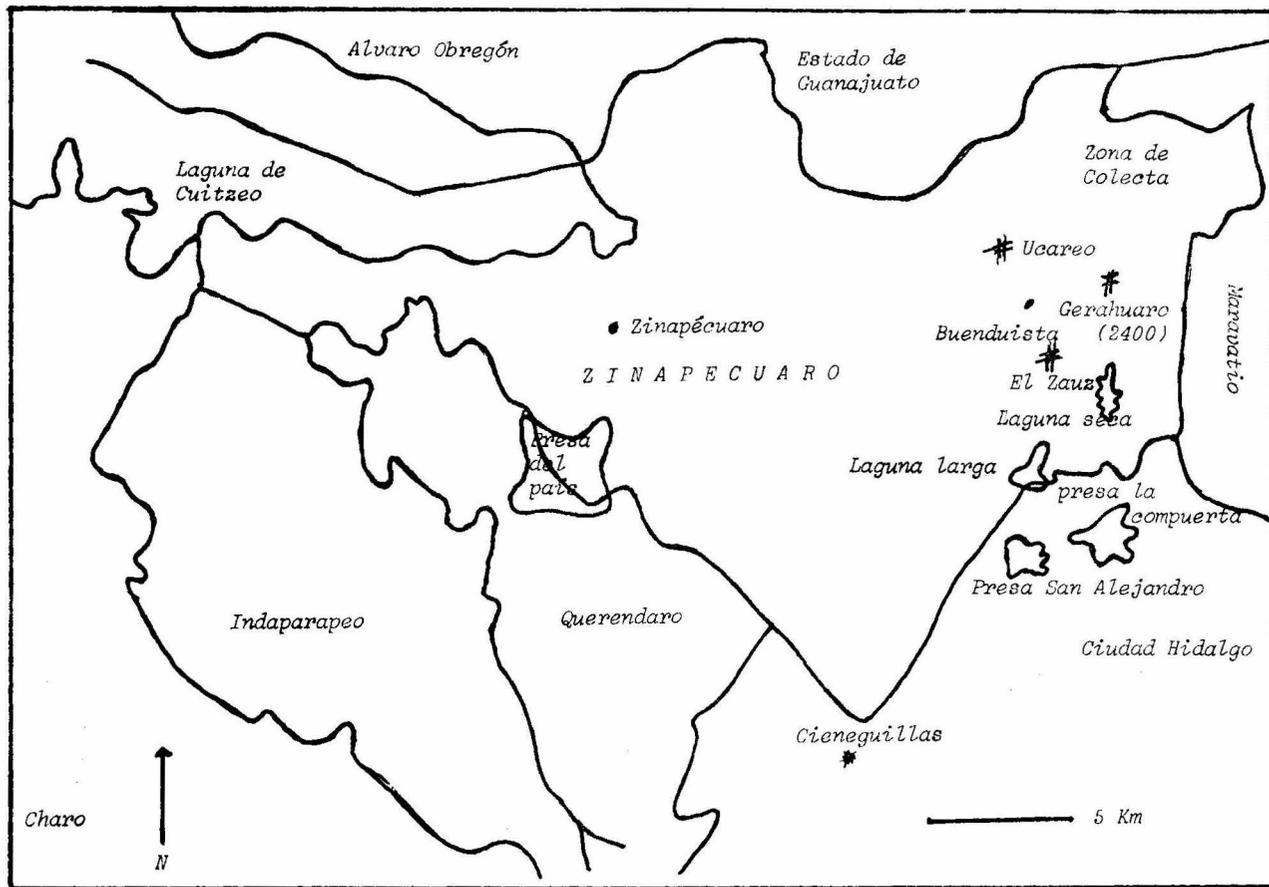
La zona de colecta está formada por arroyos intermitentes, los principales son: Las navajas, El encino, Las cherecas, La lagunita. Mapa No. 1, 2 y 3.

ESTADO DE MICHOACANA



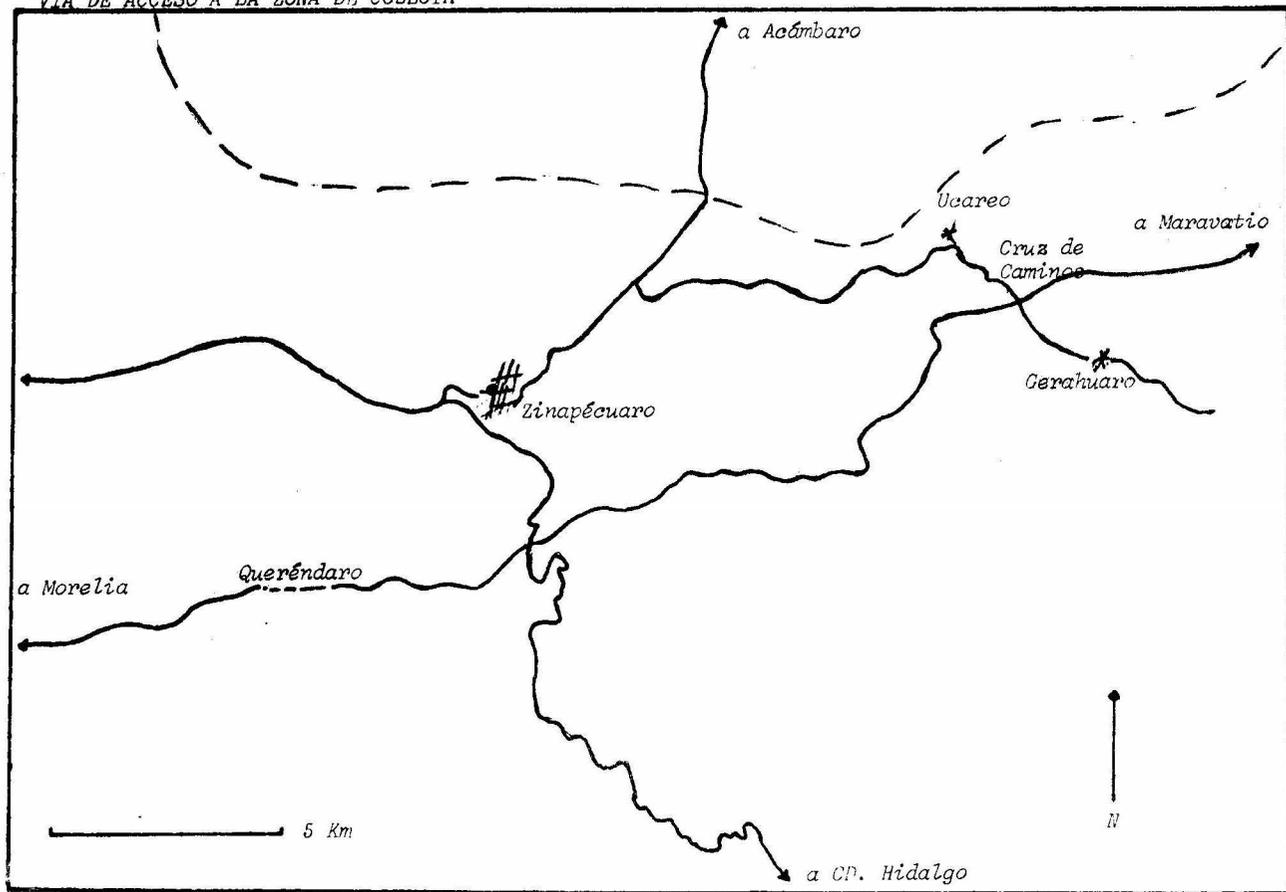
Mapa No. 1

UBICACION DE LA ZONA DE COLECTA



Mapa No. 2.

VIA DE ACCESO A LA ZONA DE COLECTA



Mapa No. 3.

MATERIAL Y METODO

COLECTA Y SECADO

Se colectaron 18 kg de E. fluviatile en los alrededores de Geráhuaro, Estado de Michoacán; algunos ejemplares se secaron en prensa para su posterior identificación, el resto de este material biológico fue secado en la sombra. El material obtenido se molió en un molino de cuchillas con el objeto de obtener una mayor superficie de contacto durante la extracción.

PRUEBAS PRELIMINARES

EXTRACCION. Se prepararon diferentes infusiones con 5 y 10 gr de la planta seca y molida, en 250 ml de agua potable manteniéndola a temperatura de ebullición durante 10 minutos.

Se extrajeron 10 gr de la planta en soxhelt a temperatura de reflujo con 50 ml en tres disolventes respectivamente; etanol, benceno y cloroformo durante 8 hr al término de este tiempo se agregó sulfato de sodio para eliminar el agua, las soluciones filtradas fueron concebtradas a sequedad por destilación a presión reducida en un rotavapor marca IKA WERK.

LOTES DE EXPERIMENTACION. Para todos los experimentos se utilizaron ratones hembras Cepa CDI con peso promedio de 30 gr, agrupándolas en lotes de 5 y coloca-

das en jaulas metabólicas individualmente.

ADMINISTRACION DEL PROBLEMA. Experimento No. 1.
Las infusiones acuosas de 5 y 10 gr se colocaron en bebederos y se administró el extracto por vía oral en libre albedrío durante 8 días; el bebedero del lote testigo contenía agua potable, durante el experimento los animales fueron alimentados con purina.

Experimento No. 2

Los residuos siferosos de las extracciones con los disolventes antes mencionados se resuspendieron en agua electropura estéril y se administraron 50 mg/kg de peso en 0.5 ml de agua por vía oral utilizando una cánula; al lote testigo se le aplicaron 0.5 ml de agua electropura de la misma manera. En este experimento los animales fueron ligeramente anesteciados con éter para que no mordieran la cánula.

A estos les fueron colocados bebederos con agua electropura en las jaulas y se les eliminó la comida durante el experimento.

VALORACION DE LA ACTIVIDAD DIURETICA. En el primer experimento las mediciones del volumen de orina se hicieron cada 24 horas. Los resultados se observan en la gráfica No. 1.

En el segundo experimento el volumen de orina excretado fue medido a las 2, 4 y 6 horas, después de ha-

ber administrado el extracto. Los resultados se observan en la gráfica No. 2.

COMPARACIONES CON DIURETICOS COMERCIALES

Al residuo saponoso del extracto cloroformico se le determinó actividad diurética nuevamente, administrando por vía oral 50 mg/kg de peso, para este ensayo se utilizaron 3 drogas como patrones de comparación; Hidroclorotiazida, Furosemida y Espinonolactona, se administraron 25 mg/kg de peso en 0.5 ml de agua destilada administrando la droga por vía oral con cánula. Los lotes estuvieron formados por 5 ratones cepa CD, como se mencionó anteriormente.

COMPARACION DE LA ACTIVIDAD DIURETICA. El volumen de orina se midió a las 2, 4, y 6 hrs. con pipeta de 1 ml. Los resultados se observan en la tabla No. 1. se determinó la concentración de electrólitos de Na(+) y K(-) por flamometría con un Flamómetro marca Worning-400 (la muestra se coloca en el aparato y se lee la concentración) y Cl(-) por titulación de la siguiente manera: se diluyeron 0.2 ml de la orina colectada 1:10 en un matraz Erlenmeyer de 25 ml al cual se le agregaron 4 gotas de indicador 5 difenil carbazona de 1000 mg/dl en etanol al 95% y 3 gotas de ácido nítrico 1M; esto se tituló con una solución de nitrato de mercurio 0.009 M en ácido nítrico 0.004 M con ayuda de una bureta de 10 ml sujetado con un soporte universal.

Meq/l (0.200 x ml de nitrato de mercurio x 2) 1000

0.200 ml.

Los resultados se muestran en la tabla No.2. Todos los resultados fueron tratados con un análisis estadístico determinando media, desviación estándar, prueba de T de Students e incremento.

EXTRACCION DEL PRINCIPIO ACTIVO. La planta seca y molida se colocó en 3 frascos de vidrio Pyrex de 20 litros, se les agregó cloroformo y se mantuvieron a temperatura de reflujo durante 72 horas; al término de este tiempo, se filtró pasando por sulfato de sodio para eliminar el agua restante de la planta y el extracto cloroformico se concentró a sequedad a presión reducida en un rotavapor. De esta manera se realizaron 3 extracciones consecutivas.

SEPARACION CROMATOGRAFICA. El extracto cloroformico se cromatografió en 13 columnas secas de 2 metros de longitud empleando como soporte sílica gel de maya 75 - 230 utilizando cloroformo como eluyente. De cada columna se obtuvieron 15 fracciones, diferenciadas con la ayuda de una lámpara ultravioleta, marca Blak Ray, extrayendo con acetato de etilo, 20 gr de cada una de ellas y se les determinó actividad diurética.

Las soluciones así obtenidas se concentraron a sequedad y se resuspendieron en agua para administrarlas por vía oral a los animales de experimentación; los resultados se observan en la Tabla No. 3.

Las fracciones activas se unieron y se extrajeron con acetato de etilo caliente con agitación constante en una parrilla. El extracto de acetato de etilo fue recromatografiado en dos columnas secas de dos metros de longitud empacadas con sílica gel de maya 75 - 230, usando benceno-acetato de etilo 8:1 V/V como eluyente, separándose de esta cromatografía 7 fracciones identificadas y cortadas de la forma antes mencionada; también se les determinó actividad diurética. Los resultados se muestran en la Tabla No. 4. Las fracciones activas se extrajeron exhaustivamente con acetato de etilo; esta solución se concentró a un volumen de 250 ml y se dejó a temperatura ambiente durante 5 días, al final de las cuales se encontró un precipitado de color café oscuro que se separó por decantación; la fase líquida se concentró a sequedad y a ambas fases se les determinó actividad diurética. Los resultados se encuentran en la Tabla No. 5.

PURIFICACION. El compuesto con actividad biológica : precipitado en acetato de etilo se recristalizó 4 veces consecutivas con etanol, obteniendo cristales blancos en forma de aguja. Una muestra de los cristales

blancos se cromatografió en placas de cromatografía de capa fina de sílica gel con la finalidad de observar el grado de pureza. Para ello se emplearon los siguientes sistemas de disolventes:

CLOROFORMO

BENCENO

HEXANO

ETANOL

CLOROFORMO ACETATO DE ETILO 4 : 1

ETANOL AGUA 4 : 2

BENCENO ACETATO DE ETILO 4 : 0.5

TETRACLORURO DE CARBONO ACETONA 1 : 1

BUTANOL PIRIDINA 4 : 1

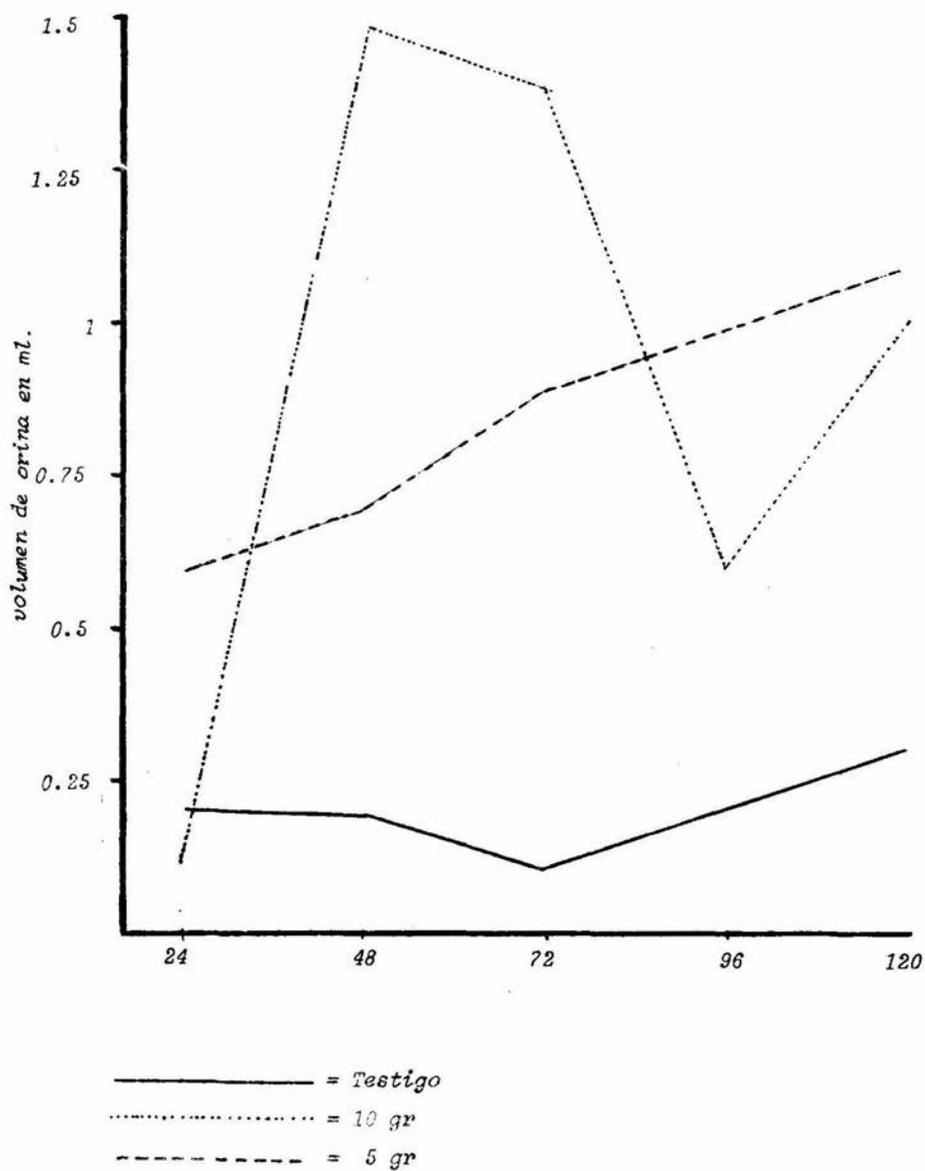
Los resultados se observan en la Tabla No. 6

Al compuesto puro se le determinó punto de fusión en un fisher marca JOHNS serie 4016 y solubilidad los resultados se encuentran en la tabla No. 7. También se sometió a los siguientes espectros: ultravioleta (UV) en un espectro photometer 8450, infrarrojo (IR) en un Beckman Acculab Model 10, resonancia magnética molecular de protones en un Variant A 60* y espectro de masas en un Hewlett-packard 5985*. Los resultados se muestran en los espectros No. 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

* Espectrometría realizada en el instituto de Química de la U.N.A.M.

DETERMINACION CUALITATIVA DE NITROGENO EN EL COMPUESTO. Se cortó un trozo de Na de 0.5 cm³ con pinzas y espátula, se puso en un tubo de ensayo de 20 cm³ junto con 0.2 gr del compuesto, colocando el tubo en un soporte universal, se calentó el fondo con un mechero fisher para que fundiera el sodio, se agregaron 0.2 gr más del compuesto; fundido el material se mantuvo el tubo al rojo durante un minuto, en seguida se depositó en un mortero con agua destilada caliente, se pulverizó y la solución se filtró. En un tubo de ensayo se colocaron 5 ml del filtrado al que se le agregó 1 ml de una solución reciente de sulfato ferroso al 10% y alcalinizado con una solución de hidróxido de sodio (ya que no hubo precipitación de hidróxido ferroso), se añadieron 5 gotas de una solución de fluoruro de sodio al 10 % y ácido sulfúrico gota a gota hasta acidificar, se dejó reposar 15 minutos, transcurrido ese tiempo se filtró y se buscó en el papel filtro la presencia de un precipitado de color azul.

ACTIVIDAD DIURETICA DEL EXTRACTO ACUOSO DEL E.
fluviatile L



GRAFICA 2

ACTIVIDAD DIURETICA DE LOS EXTRACTOS DE ETANOL, CLOROFORMO Y
HEXANO DEL E. fluviatile

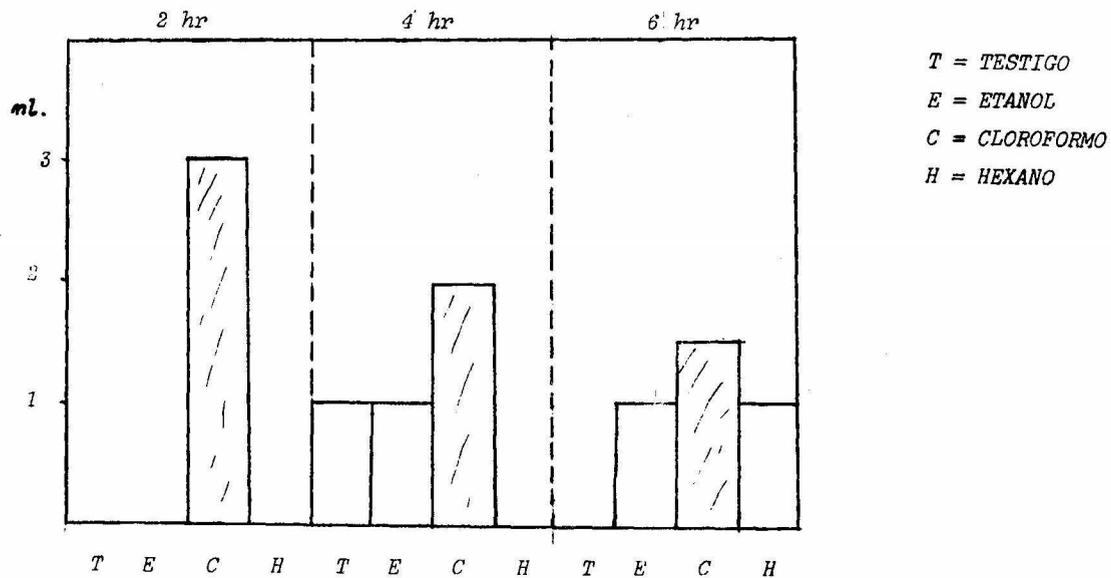


Tabla No. 1

COMPARACION DEL VOLUMEN DE ORINA EXCRETADO EN RATONES TRATADOS CON EXTRACTO CLOROFORMICO, HIDROCLOROTIAZIDA, ESPIRONOLACTONA Y FUROSEMIDA.

GRUPO	DOSIS mg/kg	PROMEDIO DE ORINA EXCRETADA (ml \pm SEM) ^a		
		+2	+4	+6 hre.
TESTIGO	-	1.4 \pm 1.7	2.4 \pm 1.5	2.9 \pm 1.3
EXTRACTO DE EQUISETO	50	2.9 \pm 2.1 (107)	4.4 \pm 1.5 (40)	5.1 \pm 1.5* (40)
HIDROCLORO- TIAZIDA	25	3.2 \pm 0.6 (128)	5.9 \pm 1.2*** (170)	7.1 \pm 1.6*** (140)
ESPIRONOLACTONA	25	2.9 \pm 1.2 (170)	5.0 \pm 2.3* (110)	6.0 \pm 2.2* (100)
FUROSEMIDA	25	3.0 \pm 0.8* (114)	4.8 \pm 1.8* (80)	5.0 \pm 2.4 (80)

a. Porcentaje de orina tomado cada 2 horas tomando el grupo control como 100%. Los resultados de la T de Student^a son reportados con los siguientes niveles de significancia indicados por asteriscos *P 0.05; **P 0.01; ***P 0.005 el volumen se reporta de manera acumulativa.

Tabla No. 2

CONCENTRACION DE ELECTROLITOS EN ORINA EXCRETADA POR RATONES TRATADOS CON
EXTRACTO CLOROFORMICO DE E. fluviatile HIDROCLOROTIAZIDA, ESPIRONOLACTONA
Y FUROSEMIDA

GRUPO	DOSIS mg/kg	PROMEDIO DE EXCRECION DE ELECTROLITOS EN (m equiv/l \pm SEM) ^a			
		Na	K	Cl	PH
TESTIGO	-	110.0 \pm 5.2	21.3 \pm 0.6	140.1 \pm 2.1	5.7
EXTRACTO DE EQUISETO	50	158.1 \pm 3.9*** (43.6)	24.9 \pm 0.8*** (16.9)	183.4 \pm 5.1*** (30.9)	6.2
HIDROCLORO- TIAZIDA	25	160 \pm 0.4*** (46.3)	22.1 \pm 0.3** (3.8)	192 \pm 0.4*** (37.0)	6.1
ESPIRONOLACTONA	25	140 \pm 0.7*** (28.0)	15.1 \pm 0.5*** (-29.1)	99.4 \pm 0.6*** (-29.0)	5.8
FUROSEMIDA	25	78.0 \pm 0.6*** (-29)	26.6 \pm 0.8*** (24.9)	148.2 \pm 1.1*** (5.8)	5.6

a. Promedio y porcentaje de electrolitos y PH en la orina tomado a las 6 horas, tomando el grupo control como inicio. Los porcentajes están en los paréntesis y la T de Student está reportada con los siguientes valores de significancias indicados por asteriscos *P 0.05; **P 0.01; ***P 0.005.

TABLA 3

Determinación de la actividad diurética de las fracciones del extracto clorofórmico (primera columna cromatografiada).

FRACCION	ACCION DIURETICA	D DE VOLUMEN %
1	-	0
2	-	0
3	-	4
4	-	0
5	-	3
6	-	0
7	-	-3
8	+	99
9	+	90
10	-	5
11	-	5
12	-	-5
13	-	3
14	-	0
15	-	0

TABLA 4

Determinación de la actividad diurética de las fracciones de la segunda columna cromatográfica.
Corrida con benceno acetato de etilo 8:1 v/v

FRACCION	ACCION DIURETICA	D DE VOLUMEN %
1	-	0
2	-	0
3	-	0
4	+	100
5	+	110
6	-	0
7	-	5

TABLA 5

ACTIVIDAD DIURETICA DE LAS FRACCIONES 4 y 5 DE LA SE---
GUNDA COLUMNA CROMATOGRAFICA

FASE	ACCION DIURETICA	%
Fase soluble en acetato de etilo	-	0
Fase insoluble en acetato de etilo	+	115

TABLA 6

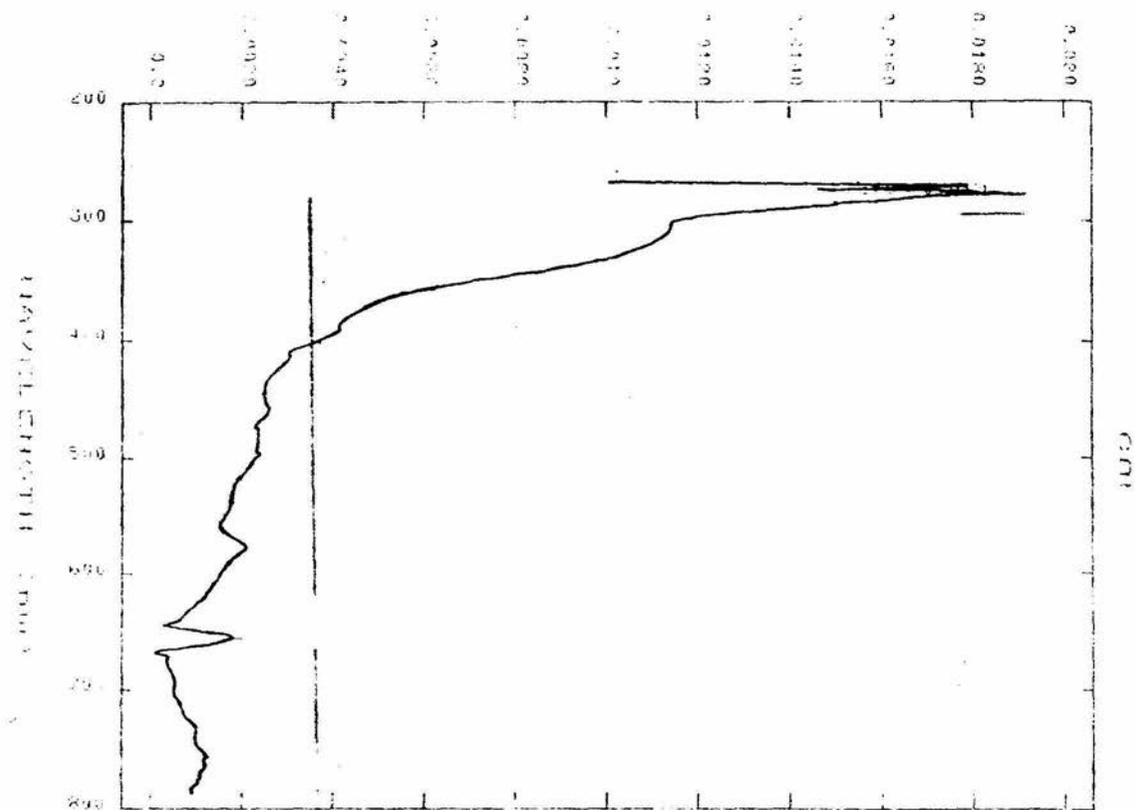
Verificación de pureza

Sistema	No. de manchas
CLOROFORMO	1
BENCENO	1
HEXANO	1
ETANOL	1
CLOROFORMO ACETATO DE ETILO	1
ETANOL AGUA	1
BENCENO ACETATO DE ETILO	1
TETRACLORURO DE CARBONO ACETONA	1
BUTANOL PIRIDINA	1

TABLA 7

Compuesto activo puro -- Punto de fución 150 - 152 C
Solubilidad --Dimetil Sulfoxido y Agua

SPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN



1. 100% de luz
 2. 100% de luz
 3. 100% de luz

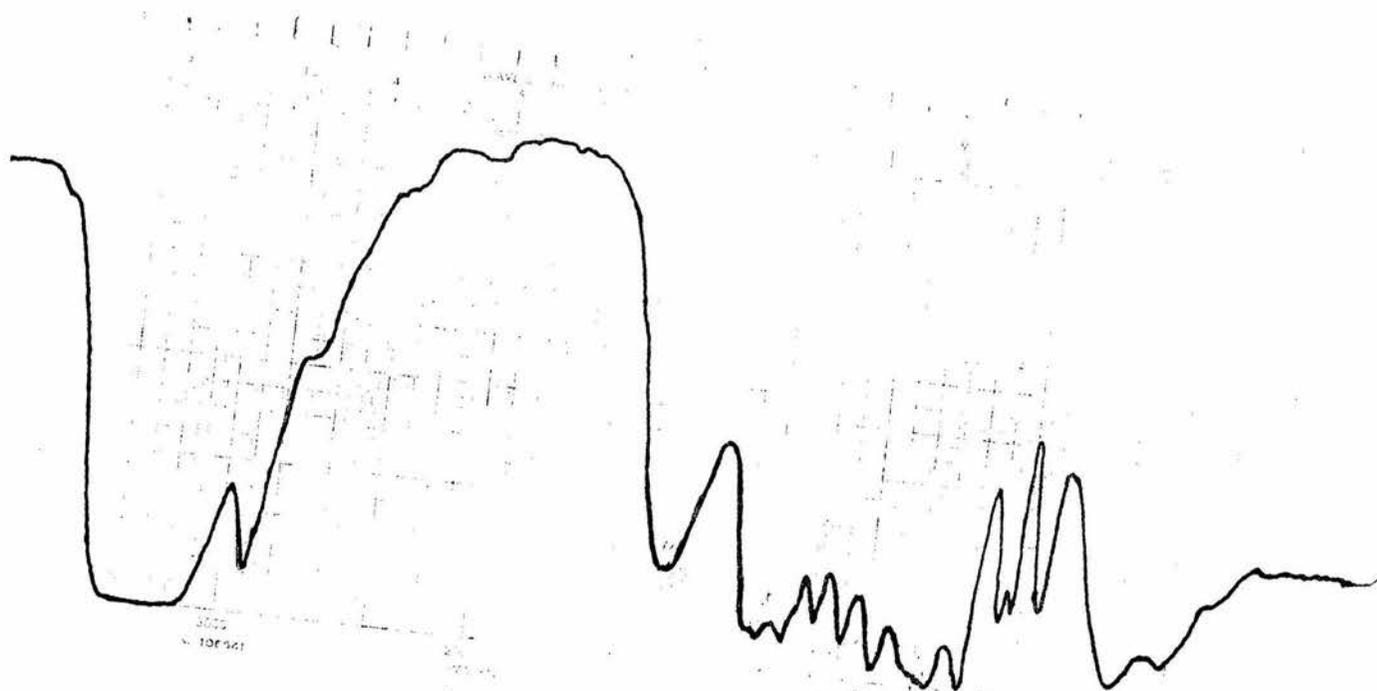
4. 100% de luz

5. 100% de luz

6. 100% de luz

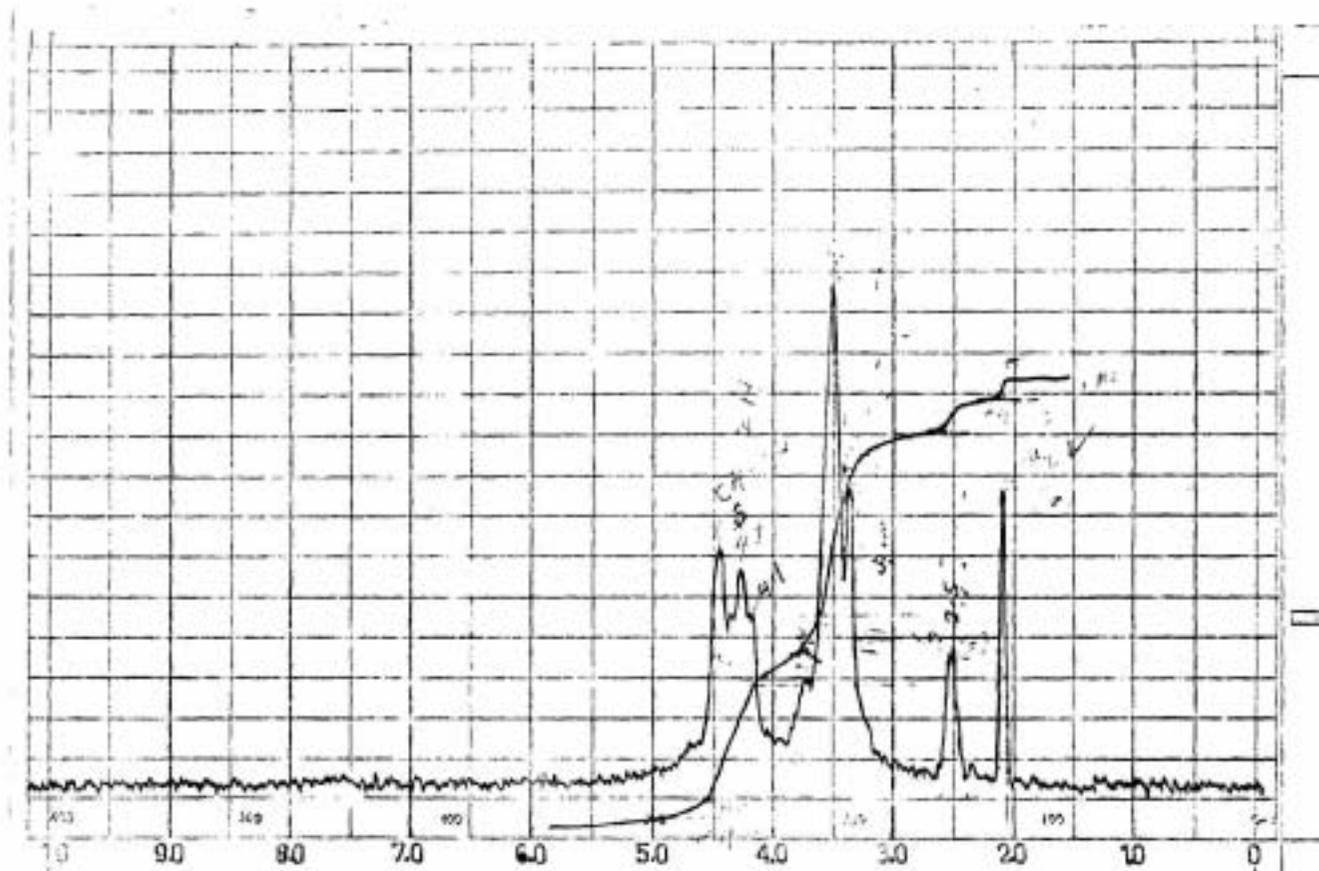
7. 100% de luz
 8. 100% de luz
 9. 100% de luz
 10. 100% de luz

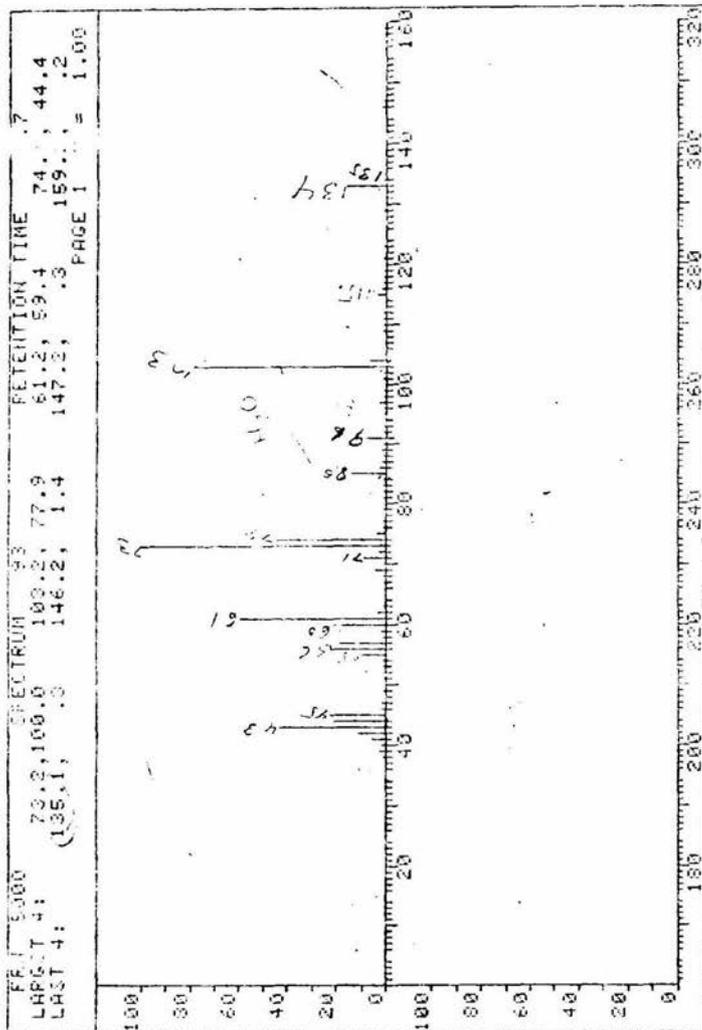
Espectro No. 1 DE LUZ ULTRAVIOLETA



Espectro No. 2 INFRARROJO Pastilla en Bromuro de Potasio

Espectro No. 3 Resonancia Magnética Nuclear de Protones con Tetrametil Silano





Espectro No. 4 ESPECTRO DE MASAS

ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la administración de las infusiones acuosas del equiseto se observó un marcado incremento en la excreción de orina en los ratones tratados con la planta, en comparación con el lote testigo. Dado que esta prueba fue positiva se procedió a buscar el disolvente que extrajera el principio activo del vegetal, para lo cual se utilizaron 3 diferentes disolventes, etanol, cloroformo y hexano, siendo el cloroformo el disolvente más adecuado para la extracción del compuesto, responsable de la actividad diurética de la planta.

En el estudio comparativo de los diuréticos comerciales con el extracto de cola de caballo, fue evidente la actividad de éste último hasta la sexta hora según los valores de significancia de la prueba T de Student, mientras que la furosemia actuó a las 2 horas, la hidroclorotizida y la espirinolactona actuaron hasta la cuarta hora después de administrada la droga. De acuerdo con los valores determinados de Na (+), K (+) y Cl (-) se encontró que la actividad de la planta es muy similar a la que presenta la hidroclorotiazida, ya que en forma semejante se incrementa la concentración de electrólitos lo que no sucede con los otros dos fármacos.

Las fracciones 8 y 9 del primer fraccionamiento cromatográfico del extracto clorofórmico se juntaron ya

que ambas presentaron actividad y se trataron con acetato de etilo por producir éste una mayor solubilidad en comparación con el cloroformo.

De la segunda cromatografía corrida con benceno, acetato de etilo 8:1 V/V, se obtuvieron 7 fracciones de las cuales la 4 y la 5 fueron activas y se extrajeron con acetato de etilo; de la solución formada, se separó un compuesto que precipitó y presentó actividad diurética, este compuesto se recrystalizó con etano. Se utilizó este disolvente porque en las pruebas preliminares se observó que el compuesto es poco soluble en etanol, característica importante para la cristalización. De esta operación se obtuvieron cristales blancos en forma de aguja a los que se les determinó pureza y punto de fusión en todos los sistemas de disolventes empleados para verificar pureza, en cromatografía de → placa fina se encontró una sola mancha, lo que indicó que los cristales se encontraban como un compuesto puro. Tal compuesto presentó un punto de fusión de 150 a 152°C con solubilidad en agua y de dimetil sulfoxido (DMSO) con un rendimiento de 0.0004%.

Con los cristales puros se realizaron pruebas espectroscópicas para la elucidación de la estructura del compuesto que tiene la acción farmacológica. Se realizó una prueba de presencia de nitrógeno en la molécula que resultó positiva evidenciada por la presen-

cia de un color azul, por lo que la estructura propuesta para el compuesto aislado con propiedad diurética es la siguiente; figura No. 6.

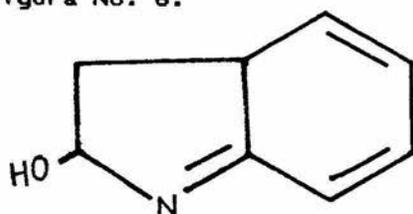


Figura No. 6. Estructura del compuesto con propiedad diurética extraído del E. fluviatile L.
 Formula empirica C 8 H 9 ON
 Análisis elemental teórico C 71.17 H --
 6.66 ó 11.18 N 10.3

DISCUSION

El Equisetum fluviatile o cola de caballo presenta una amplia distribución dentro del país ya que crece en los márgenes de los arroyos, pantanos y planicies muy húmedas. Se ha llegado a observar que también crece entre la grava que sirve de asiento a los durmientes de las vías de ferrocarril. Se escogió la zona de Guaráhuaro en Michoacán debido a la abundancia de esta planta en dicho lugar y porque es una de las regiones donde más se utiliza este vegetal como diurético.

La actividad diurética del equiseto se observó al administrar infusiones de la planta en libre albedrío ya que los ratones de experimentación aumentaron el volumen normal de orina. Dado esto se determinó si había cambios a nivel de electrólitos utilizando un extracto de cola de caballo hecho con cloroformo ya que fue solvente que solubilizó mejor al principio activo, este fue administrado por vía oral en dosis de 50 mg/kg de peso a los animales de experimentación resuspendido en agua; a la orina escretada de estos organismos se les determinó la concentración de electrólitos Na (+), K (+) y Cl (-) estos valores se compararon con los producidos con tres diuréticos comerciales: furosemida, espironolactona e hidroclorotiazida, evidenciando así su actividad diurética, ya que se comporta de una manera similar a la hidroclorotiazida.

El compuesto con propiedad diurética extraído de la cola de caballo fue aislado con técnicas de extracción usando disolventes. En este caso se utilizó el cloroformo para la extracción total de planta; posteriormente se siguieron técnicas de cromatografía para fraccionar el extracto y aislar el compuesto activo el que fue rastreado por medio de pruebas farmacológicas en razones de laboratorio.

El compuesto aislado cristalizó en forma de aguja y se le determinó el punto de fusión para conocer su naturaleza química el cual fue de 150 a 152° por lo tanto es de naturaleza orgánica.

El espectro ultravioleta (UV) muestra una lambda maxima de absorción a 300 nm y esto se debe a la presencia de sistemas conjugados.

El espectro infrarrojo mostró las bandas características de 2950 cm^{-1} producidas por la vibración estreching del grupo C - N que ocurre en las regiones de 2975 - 2840 cm^{-1} . Las bandas de 1000, 920 y 595 cm^{-1} son características del ciclopentano, a 238, 1240 y 1030 se confirma el grupo C - H, a 1620 y 710 cm^{-1} es el rango donde se encuentran representados los dobles enlaces que tienen la configuración cis del grupo C=C. La absorción estreching del grupo C - C ocurre en la región de 1260 - 700 cm^{-1} ; para el espectro en cuestión ésta banda aparece a 1880- cm^{-1} . La vibración rocking

del grupo CH₂ es generalmente débil y ocurre en las cercanías de 1305 - 1460 cm⁻¹; la deformación de la banda se debe a la presencia de un grupo O - H se presentan a 3600 cm⁻¹ y la absorción del grupo C - OH produce una vibración estreching entre 1200 y 1000 cm⁻¹ traslapada en este caso por la señal del ciclopentano.

La resonancia magnética nuclear de protones mostro señales de 2.1 ppm con un sigulete equivalente a los dos protones de CH₂ (a) , 2.5 ppm un doblete equivalente al protón del C - H (b) , 3.5 ppm un triplete debido al protón vecino del O - H (c) , 4.1-4.6 ppm un multiplete producido por cinco protones, uno del O - H y cuatro de los protones de las dobles ligaduras (d).

a, b, c y d se muestran en la siguiente estructura (figura No. 7).

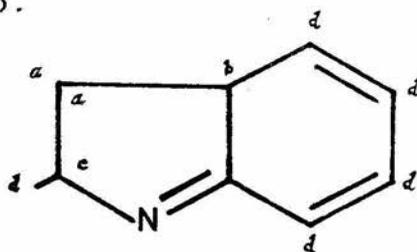


Figura No. 7. Estructura de los anillos y posición de los Hidrógenos.

El espectro de masas presentó los siguientes datos:

Peso molecular de 135; esto se deduce observando el último pico del espectro de masas. Las fragmentaciones que presenta la gráfica del espectro de masas por unidad de carga (M/e) son de la siguiente manera:

El primer rompimiento es la pérdida del agua (I) observando un M/e = 117 C 8 H 7 ON, con la pérdida de metanol (II) se forma un M/e = 103 C 7 H 6 N; con un arreglo estructural de la molécula (III) se fracciona en C 2 H 7 NO (IV) con una M/e = 61 y C 6 H 2 (V) M/e = 74; con otro arreglo estructural de la molécula (VI) se fracciona en C 4 H 7 N O (VII) M/e = 85 y finalmente de VI con la pérdida de CH 2 N O se obtiene C 7 H 7 M/e 91 (VIII) como se observa en el siguiente mapa de fragmentación. (figura No. 8).

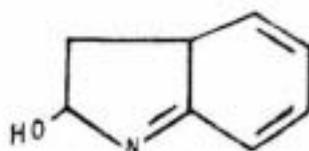
La estructura del compuesto que produce la acción farmacológica no es parecido estructuralmente a ninguno de los diuréticos comerciales utilizados en la terapia de trastornos renales, sin embargo el diurético obtenido del E. fluviatile muestra una actividad muy similar a la hidroclo rotiazida.

En cuanto a la industrialización del fármaco a partir de la planta no es redituable por poseer un bajo rendimiento, y antes de analizar las posibilidades de

síntesis es necesario realizar estudios de toxicidad y farmacodinamia.

CONCLUSIONES

El *E. fluviatile* posee una acción diurética utilizada en la población nacional y verificada en ratones de laboratorio. El principio activo del *Equisetum* fue aislado e identificada su estructura química, siendo ésta el alcaloide heterocíclico siguiente:



Estructura del compuesto con actividad diurética.

Dado que los trastornos renales son un serio problema de salud pública, se considera que el uso de la droga extraída de esta planta puede ser importante para el tratamiento de estas enfermedades, sin embargo, aún faltan estudios de toxicidad y farmacodinamia para utilizar este compuesto en dicha terapéutica.

Para que un ecosistema sea explotado adecuadamente por sus moradores, necesariamente debe ser bien conocido. Este conocimiento se adquiere de la experimentación directa y constante desde sus antepasados hasta la actualidad, es decir que para una relación óptima hombre planta debe haber todo un proceso histórico de aparición de las plantas y su uso. México además de contar con una flora abundante y variada también posee alrededor de 50 grupos étnicos que utilizan hoy en día las plantas medicinales. Las comunidades indígenas

contribuyen así con un acervo de conocimientos que esperamos puedan ser dados a conocer.

En un país en vías de desarrollo como lo es México se hace imperiosa la necesidad de realizar un aprovechamiento óptimo de los recursos naturales, y un medio para lograrlo está en dar mayor auge a las investigaciones etnofarmacológicas con el fin de encontrar nuevas fuentes generadoras de productos medicinales.

ANEXO

OTROS VEGETALES CON PROPIEDAD DIURETICA DE LA SIGUIENTE LISTA DE PLANTAS CON PROPIEDAD DIURETICA REPORTADAS POR FRONZ (1980) ALGUNAS SON ACTIVAS Y OTRAS NO, Y NO SE LES HA VERIFICADO A TODAS SU SUPUESTA ACTIVIDAD.

FAMILIA	GENERO Y ESPECIE	NOMBRE COMUN
	<u>Lycopodio</u>	
	<u>Equisetos</u>	
	<u>Helecho amarillo</u>	Doradilla
TAXODIACEAE	<u>Juniperus communis</u>	Enebro
ABIETACEAE	<u>Abies alba</u>	Abeto
BETULACEAE	<u>Betula verrucosa</u>	Abedul
FAGACEAE	<u>Castanea sativa</u>	Castaña
MORACEAE	<u>Morus alba</u>	Morera
CANNACEAE	<u>Cannabis sativa</u>	Cáñamo
URTICACEAE	<u>Urtica dioica</u>	Ortiga mayor
"	<u>Parietaria officinalis</u>	Parietaria
LORANTACEAE	<u>Viscum album</u>	Muérdago
ELIGONACEAE	<u>Pumex acetosa</u>	Acedera
QUENEPODIDACEAE	<u>Atriplex hortensis</u>	Armuelle
PORTULACACEAE	<u>Portulaca oleracea</u>	Verdolaga
CARIOFILACEAE	<u>Paronychia argentea</u>	Nevadilla
"	<u>Herniaria glabra</u>	Herniaria
"	<u>Spergularia rubra</u>	Arenaria roja
RANUNCULACEAE	<u>Adonis vernalis</u>	Adonis vernal
CAPARIDACEAE	<u>Capparis spinosa</u>	Alcaparra
CRUCIFERAE	<u>Alliaria officinalis</u>	Aliaria
"	<u>Brassica oleracea</u>	Berza
"	<u>Alyssum maritimum</u>	Mastuerzo marítimo
"	<u>Armoracia lapatifolia</u>	Rabano rústico
"	<u>Eruca vesicaria</u>	Oruga
"	<u>Cochlearia officinalis</u>	Cocloaria
"	<u>Lepidium sativum</u>	Mastuerzo
"	<u>Coernopus acuminatus</u>	Mastuerzo silvestre
"	<u>Nasturtium officinale</u>	Berro

FAMILIA	GENERO Y ESPECIE	NOMBRE COMUN
CRUCIFERAE	<u>Raphanus sativus</u>	Rábano
CISTACEAE	<u>Helianthemus lavandulifolium</u>	Hierba sana
"	<u>Fumana thymifolia</u>	Tomillo morisco
SAXIFRAGACEAE	<u>Saxifraga granulata</u>	Saxifraga
"	<u>Saxifraga longifolia</u>	Corona de rey
ROSACEAE	<u>Filipendula ulmaria</u>	Ulmaria
"	<u>Filipendula hexapetala</u>	Filipendula
"	<u>Fragaria vesca</u>	Fresa
"	<u>Rosa canina</u>	Rosal silvestre
"	<u>Sorbus aucuparia</u>	Serbal silvestre
"	<u>Pronus avium</u>	Cerozo
LEGUMINOSEAE	<u>Spartium junceum</u>	Gayombra
"	<u>Genistella sagittata</u>	Carquezia fina
"	<u>Cytisus purgans</u>	Piorno
"	<u>Ononis spinosa</u>	Gatuña
"	<u>Trifolium pratense</u>	Trebol
"	<u>Lathyrus tuberosus</u>	Gutija tuberosa
"	<u>Phaseolus vulgaris</u>	Judia Frijol
OXALIDACEAE	<u>Geranium robertianum</u>	Hierba de Sn. Roberto
"	<u>Geranium columbianum</u>	Pie de palom
RUTACEAE	<u>Citrus medica</u>	Cidro
AQUIFOLIACEAE	<u>Ilex aquifolium</u>	Acebo
UMBRELLIFERAE	<u>Hydrocotyle vulgaris</u>	Hidrocotila
"	<u>Eryngium campestre</u>	Cardo corredor
"	<u>Eryngium maritimum</u>	Eringio marítimo
"	<u>Anthriscus cerefolium</u>	Perifollo
"	<u>Smyrnium olusatrum</u>	Apio caballar
"	<u>Petroselinum hortense</u>	Perejil
"	<u>Carum carvi</u>	Alcaravea
"	<u>Foeniculum vulgare</u>	Ninojo
"	<u>Meum athamanticum</u>	Meo
"	<u>Angelica achangelica</u>	Angélica
"	<u>Peucedanum officinale</u>	Servato
"	<u>Peucedanum ostruthium</u>	Imperatoria
"	<u>Daucus carota</u>	Zanahoria

FAMILIA	GENERO Y ESPECIE	NOMBRE COMUN
PRINULACEAE	<u>Primula veris</u>	Primavera
PIROLACEAE	<u>Pirola rotundifolia</u>	Pirola
ERICACEAE	<u>Calluna vulgaris</u>	Brecina
"	<u>Rhododendron ferrugineum</u>	Rododendrón
BORAGINACEAE	<u>Borago officinalis</u>	Borraja
"	<u>Lithospermum officinale</u>	Mijo de sol
SOLANACEAE	<u>Lycium halimifolium</u>	Cambroneras
"	<u>Physalis alkekengi</u>	Alkekengi
ESCROFULARIACEAE	<u>Linaria cymbalaria</u>	Cimbalaria
"	<u>Veronica beccabunga</u>	Beccabunga
"	<u>Veronica angollis</u>	Angalide acuática
"	<u>Digitalis purpurea</u>	Digital
VERBENACEAE	<u>Vitex agnus-castus</u>	Sauzgatillo
LABIATAE	<u>Ajuga reptans</u>	Pinillo
"	<u>Teucrium pium</u>	Zamarrilla
"	<u>Rosmarinus officinalis</u>	Romero
"	<u>Glechoma hederacea</u>	Hiedra terrestre
"	<u>Melittis melissophyllum</u>	Toronjil silvestre
"	<u>Phlomis purpurea</u>	Matagallo
"	<u>Salvia officinalis</u>	Salvia
GLOBULARIACEAE	<u>Globularia vulgaris</u>	Globularia mayor
ASCLEPIADACEAE	<u>Cynanchum uncetoxicum</u>	Vencetozigo
OLEACEAE	<u>Fraxinus oxycarpa</u>	Fresno
"	<u>Olea europea</u>	Olivo
RUBIACEAE	<u>Asperula cynanchica</u>	Hierba de la equinancia
"	<u>Galium aparine</u>	Amor de Hortelano
"	<u>Rubia tinctorum</u>	Rubia
CAPRIFOLIACEAE	<u>Sambucus nigra</u>	Sauco
"	<u>Sambucus ebulus</u>	Yerbo
"	<u>Dipsacus fullonum</u>	Cardencha
CUCURBITACEAE	<u>Bryonia dioica</u>	Buena
"	<u>Ecballium elaterium</u>	Cohombillo amargo

FAMILIA	GENERO Y ESPECIE	NOMBRE COMUN
COMPOSITAE		
Subf. Tubuliflora	<u>Eupatorium cannabinum</u>	Eupatorio
"	<u>Solidago virga-aurea</u>	Vara de oro
"	<u>Centaurea calcitrapa</u>	Calcitrapa
Subf. Liguliflora	<u>Scelymus hispanicus</u>	Cardillo
"	<u>Scorsonera hispanica</u>	Escorsonera
"	<u>Fragopogon porrifolius</u>	Salsifi
"	<u>Taraxacum officinale</u>	Diente de león
LILIACEAE	<u>Lilium martagon</u>	Martagón
"	<u>Ornithogalum umbelatum</u>	Leche de gallina
"	<u>Urginea maritima</u>	Secila
"	<u>Asparagus officinalis</u>	Esparragera
"	<u>Ruscus aculeatus</u>	Rusco
"	<u>Poligonatum odoratum</u>	Poligonato
"	<u>Asphodelus cerasifer</u>	Gamón
IRIDACEAE	<u>Iris foetidissima</u>	Lirio hediondo
GRAMINACEAE	<u>Arundo donax</u>	Caña común
"	<u>Hordeum hexastichum</u>	Cebada
"	<u>Agropyrum repens</u>	Gramma de las boticas
"	<u>Cynodon dactylon</u>	Gramma
"	<u>Zea mays</u>	Maza

BIBLIOGRAFIA.

1. Ahlstrand, C et al (1981). Metabolic Effects of Bendroflumetriazide in Patients with Recurrent Calcium Oxalate Disease. *Journal of Urology* (126): 635-639.
2. Alvarez del C.,C. (1977). Estudio Ecológico y Florístico del Carácter del volcan Sn. Martín Tuxtla, Ver. Mexico. *Biota* 2(1) : 354.
3. Alvarez, H. L. (1976) Breve estudio de las plantas medicinales en Hueyapa, Morelos. Ed. Estudio de Etnobotánica y antropología Médica. Instituto Mexicano para el estudio de plantas medicinales. 1:85-109.
4. Ansures y Bolaños (1979). Medicina Tradicional en México, Sincretismo y Conflictos. Tesis. Esc. Nal. de Antropología e Historia UNAM 202 pags.
5. Ansures y Bolaños (1979). Medicina Tradicional entre los Tarahumaras. *Medicina Tradicional*. 1 (4) :39-47.
6. Boineau, F.G., et (1983) Renal Quantitative Scintillation Camera Study for Determination of

- Renal Function. *Journal of Urology* 129:461-465.
7. Bold, H.C. et al (1980). *Morfologi of Plants and Fungi* Ed. Harper and Row, 4^{ed}. New York 343-356.
 8. Cristian, G.D. (1982) *Química Analítica*. Ed. LIMUSA. México pp.303-336.
 9. Cronquist, A. (1971). *Introducción a la Botánica*. Ed Continental, 2^a ed. México. pp 335 - 339.
 10. Desteuens, G. (1963). *A Series of Monographs. Medicinal Chemistry* 1: 1-11.
 11. Dominguez, A. X. (1973) *Metodos de Investigación - Fitoquímica*. Ed. Limusa. México 7;91.
 12. Drill, A. Víctor., (1974) *Enfoques Modernos en la Farmacología Médica*. Edit. Prensa Medica Mexicana, Ed. 2; México, D.F. 1-16.
 13. Ewing, G. W. (1975). *Instrumental Methods of Chemical Analysis*. Ed. International Student Japon 39: 102-136.
 14. Fnagle, K.G., et al j (1983). *Renal Clasifications of Long-Term Furosemide Therapy in Pre-term Infants*. *Pediatrics*. 70: 36-363.

15. Front, G.P. (1980). El Discorides Renovado. Ed. Labor México. pp. 7-915.
16. García E. (1973) Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen Ed. UNAM. Instituto de Geografía Mexico pp.127.135.
17. Gros, E. D. (1974). Espectroscopía Infrarroja. Ed. The General Secretariat of the Organization of American States.
18. Golhko, R.S. (1966) Chem Ind. London. pp. 1963.
19. Hauke, R. (1983). A Taxonomic Monograph of Genus Equisetum subgenus Hipocaeete. Ed. Weinheim Verlag Von J. Cramer. 49, 63,73.
20. Janson, B. O., Lindholm E., Skerbele A. (1969) Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys 3, 385.
21. Konnak, J. W., et al (1983). Diuretic Radionuclide Urography in Diagnosis of Suspected Urinary Obstruction Following Renal Transplantation. Journal of urology 129:708-760.
22. Larriaga, A. I. (1979). Medicina Tradicional. INAH SEP. Mexico. 98-100.
23. Monloney, M. (1981). An Early Contribution to the Concept of Ethnopharmacology. Journal of Ethnopharmacology 3:15-19.

24. Najak, U. R., et al (1981). Cocumis trigonus Roxb II Diuretic Activity. Journal of Ethnopharmacology 3: 15 -19.
25. Nitta, A. et al (1977). A Comparative Study of Crude Drugs Derived from Equisetum Species. Chem. Pharm, Bull. 25: 1135.
26. Nudine, H. J., et al (1964). Pharmacologie Techniques in Drug Evaluation. Ed. Year Book Medical Publishers. USA. 233-237.
27. Pecsok, R. L. (1973). Métodos Modernos de Análisis Químicos Experimentos. Ed. Limusa. México 55-215.
28. Rijkmans, B. G., et al (1982). Funcional Studies in Days Success Full Preserved Canine Kidneys. Journal of Urology 127: 163 - 167.
29. Ruzui, H.S., et al (1980). Two Diuretic Triterpenoids from Antidesma menaus. Phytochemistry 19: 15-19.
30. Robertson, G. H. (1970). Laboratory Practics of Organic Chemistry Macmilan Company. USA. 88-89.
31. Roos, M. H., et al (1970). Atlas of Descriptive Histology. Ed. Harper International, 2nd ed. Signapure 153-163.

32. SPP (1984) Información Estadística Sector Salud y Seguridad Social. Ed. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática 3 : 7-50.
33. SPP Detenal (1979) Carta Topográfica Zinazpecuano E 14 d14 Escala 1:50000.
34. Squib. E. R. and Sons de México. (1984). Terapéutica de la Hipertensión. México. 17 - 50.
35. Strand, F. L. (1982). Fisiología Humana. Ed. Interamericana. México. 312-330.
36. Thrupp, L.D., et al (1981). Evaluation of Unere Culture Screening by Light Scatter Photometry. Surgical Techniques Equipment and Instruments. 76 : 208-211.
37. Viesca, T.C. (1976). La herbolanía en el México Prehispánico. Ed. Estado Actual del conocimiento de Plantas Medicinales. Instituto Mexicano para el Estudio de plantas Medicinales, A.C. 11-25.
38. Whelton, A., et al (1982). Antibiotic Farmacokinetics and Clinical application in Renal Insufficiency. Med. Clin. n. Amer. 66 : 635-639.