



Efecto diurético de la ortiga, *Urtica dioica*, y los niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus albinus*.

Diuretic effect of *Urtica dioica* and excretion levels of sodium in *Rattus rattus albinus*

Segundo F. Castillo Viera y Ericson F. Castillo Saavedra

Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo. Perú

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue determinar si el extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* L. "ortiga" presenta efecto sobre la diuresis y los niveles de excreción de sodio en la orina de *Rattus rattus* var. *albinus*. Se utilizaron 30 especímenes, los mismos que se mantuvieron en ayunas 18 horas previas al inicio del experimento y durante las seis horas de recolección de la orina. Estos animales fueron divididos en tres grupos de tratamiento A, B y C, a los que se les administró, respectivamente, solución salina fisiológica, 10mg/Kg/pc de hidroclorotiazida y 1.5gr/Kg/pc de extracto hidroalcohólico de ortiga. Se encontró efecto diurético en el grupo C, al presentar un volumen urinario acumulativo de 11.82 mL, mayor significativamente ($p < 0.05$) respecto al grupo A (7.66 mL) y B (11.06 mL). Asimismo, referente a los niveles de excreción de sodio en la orina el grupo tratado con el extracto alcanzó un valor favorable estadísticamente significativa ($p < 0.05$) frente a los otros grupos. Se concluye que *U. dioica* presenta efecto diurético y aumenta los niveles de excreción de sodio en *Rattus r. albinus*.

Palabras clave: *Urtica dioica* L., efecto diurético, niveles de sodio, *Rattus rattus* var. *albinus*.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine if the hydroalcoholic extract of *Urtica dioica* L. "nettle" has effect on diuresis and levels of sodium excretion in the urine of *Rattus rattus* var. *albinus*. Thirty-three specimens, the same that were fasted 18 before the start of the experiment and during the six-hour urine collection hours were used. These animals were divided into three treatment groups A, B and C, which were administered, respectively, physiological saline, hydrochlorothiazide 10mg/Kg/pc 1.5gr/Kg/pc, and hydroalcoholic extract of nettle. Diuretic effect was found in the C group, introducing a cumulative urinary volume of 11.82 mL, significantly higher ($p < 0.05$) compared to group A (7.66 mL) and B (11.06 mL). Also, on the levels of sodium excretion in the urine extract -treated group achieved a statistically significant positive value ($p < 0.05$) compared to other groups. It is concluded that *U. dioica* has diuretic effect and increases the levels of sodium excretion *Rattus r. albinus*.

Keywords: *Urtica dioica* L., diuretic, sodium levels, *Rattus rattus* var. *albinus*.

INTRODUCCIÓN

Los diuréticos incrementan la excreción renal de agua y sodio, aunque hablando en términos estrictos, diuresis sólo significa un aumento del volumen de orina. El efecto primario de la mayoría de fármacos diuréticos es reducir la reabsorción de sodio siendo un efecto secundario el aumento de la pérdida de agua. Todos los fármacos diuréticos que no son diuréticos osmóticos, actúan directamente sobre la célula del epitelio de los túbulos renales en regiones anatómicas determinadas de la nefrona; por lo general, esta acción se ejerce en lugares situados sobre la membrana de la luz del túbulo después de la filtración del fármaco en el glomérulo y de la secreción hacia el túbulo contorneado proximal^{1,2,3}. También existen los diuréticos de asa, los que actúan sobre el asa de Henle, y en particular sobre la rama ascendente gruesa del asa, donde se reabsorbe aproximadamente el 25% del sodio filtrado, son los más potentes de todos los agentes diuréticos y se denominan diuréticos de techo alto que permiten la excreción del 15 al 25% del sodio filtrado, en vez del 1% menos que se excreta normalmente en una dieta habitual^{4,5}.

El mecanismo de acción molecular de los diuréticos de basa es una acción inhibitoria sobre el cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ en la membrana luminal de la rama ascendente gruesa del asa de henle. Los diuréticos del asa reducen la tonicidad del intersticio medular y por tanto inhiben la reabsorción del agua en el conducto colector. Esto da lugar a una abundante diuresis⁵.

La hidroclorotiazida es un diurético tiazidico que inhiben al cotransportador Na^+/Cl^- en el túbulo contorneado distal. En comparación de diuréticos de asa las tiazidas producen la diuresis moderada que excreta un máximo del 5% del sodio filtrado, siendo el 90% de este reabsorbido antes de llegar al túbulo contorneado distal. Por su acción diurética moderada es que se justifica como modelo terapéutico como patrón para evaluar la acción diurética, y compararlo con el efecto del extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* L. y poder demostrar si posee bondades diuréticas en *Rattus rattus* var. *albinus*^{4,5}.

En situaciones de enfermedades edematosas y también en alteraciones de la presión arterial se indica como una forma de terapia el uso de diuréticos para disminuir la volemia. En nuestro medio de acuerdo al nivel sociocultural y económico muchas veces no es posible el uso de medicamentos y existe un gran sector de nuestra comunidad que accede al uso de la llamada medicina tradicional, que se basa en el uso de plantas medicinales. Según estimaciones entre el 70 y 80% de población mundial recurre al uso de plantas medicinales para paliar sus enfermedades y conseguir la recuperación de su salud, lo que constituye el recurso más conocido y muchas veces el más accesible para la población³.

Urtica dioica L. contiene en la sumidad florida una gran variedad de fitoconstituyentes como: flavonoides (0.7-1.8%), rutina, isoquercitrina (0.02%), quercetina, kenferol, isoramnetina, astralgina; aceites esenciales: cetonas (38.5%) como 2-metil-hepten-2-en-6-ona, ésteres (14.7%), alcoholes libres (2%); ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico, ácidos clorogénico (clorofila a y b reconstituyente), cafeico, cafeilmálico; taninos; ácidos orgánicos: ácidos acético, butírico, cítrico, fórmico, fumárico; sales minerales (20%): hierro, azufre, ácido silícico (0.9-1.8%), sales potásicas (0.6%) y cálcicas, nitratos (1.5-3.0%); carotenos; esteroides: beta-sitosterol; aminas: hisyamina, serotonina, acetilcolina; alcaloides: betaína; vitaminas: vitamina A, B2, C, K1, ácido fólico y pantoténico^{6,7}. Se sabe que esta planta presenta actividad antioxidante, antimicrobiana, antiulcerosa, analgésica⁸, antiinflamatoria⁹, hipoglicémica^{9,10} y antihipercolesterolemica¹¹.

En medicina popular, se utilizan las hojas, tallos, y en menor medida el rizoma de ortiga, preparado como jugo fresco prensado, para su uso depurativo, diurético, astringente, hemostático, mineralizante y/o estimulante del sistema circulatorio, cuando hay dolores reumáticos, artritis, gota, neuralgias, hemorroides (pomada de ortiga), afecciones de la piel y del cuero cabelludo (caspa y caída del cabello), como drenador hepático y diurético de tipo volumétrico y eliminador de ácido úrico^{6,7}.

Tahri y cols.¹² investigaron la actividad diurética, natriurética e hipotensora de *U. dioica*, en base a los volúmenes de orina excretados a través de una perfusión continua intravenosa y demostraron que el extracto acuoso de las partes aéreas a una baja velocidad de 4 mg/Kg/h y una alta velocidad de 24 mg/Kg/h en *Rattus rattus* var. *albinus* presentaban actividad diurética, con posibles efectos tóxicos dosis dependiente. Mostacero y cols⁶, también le confieren actividad diurética a este vegetal. Por su parte, la

experiencia popular afirma que las hojas de la planta en estudio tienen acción diurética, aspecto que motivó a realizar el estudio experimental del efecto diurético y niveles de excreción de sodio del extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* en *Rattus rattus* var. *albinus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico:

Se trabajó con 30 ratas albinas, de ambos sexos, con una edad promedio de 3 a 4 meses, aparentemente sanas y un rango de peso corporal de 200 a 250 gramos y con plantas completas de ortiga recolectadas en diversas partes del departamento La Libertad (Perú), las que fueron identificadas taxonómicamente en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.

Cuantificación y dosificación del extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica*.

Se pesó 100 g. de hojas de ortiga que se colocaron en una estufa a 35 °C, con la cantidad que se obtenga se procedió a molerla en un mortero. Dicho producto se hizo hervir con alcohol etílico al 70 % en un sistema de destilación. El producto que se obtuvo fue secado y mantenido en refrigeración^{12,13}. En base a un trabajo piloto se determinó la dosis efectiva cincuenta (DE₅₀) del extracto seco. El extracto hidroalcohólico seco diluido en agua destilada se administró a los animales de experimentación.

Preparación y distribución de los especímenes:

El total de animales fueron ubicados en una habitación cerrada libre de estímulos para su ambientación y recibieron dieta controlada por espacio de 15 días antes del experimento, en las siguientes condiciones: ciclo luz – oscuridad de 12 horas, temperatura, 22° a 26°C, seis animales en cada jaula.

Los especímenes fueron distribuidos en tres grupos, trabajados grupalmente en fechas diferentes:

- A. Grupo control: 10 especímenes.
- B. Grupo patrón: 10 especímenes.
- C. Grupo problema: 10 especímenes.

Estudio farmacodinámico:

La evaluación de la diuresis se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Lipschitz et al^{13,14,15}: se tomaron treinta ratas y se repartieron en tres grupos de diez animales cada uno. Los animales se mantuvieron sin comida y sin agua en las 18 horas previas al inicio del experimento y durante las seis horas de recolección de la orina.

Niveles de volumen urinario

A todos los animales se les administró por vía oral un volumen de agua de 25 ml por kg. de peso del animal.

- **Grupo control:** únicamente solución salina normal (sodio=154 mmol/L, cloro =154 mmol/L).
- **Grupo patrón:** hidroclorotiazida (10 mg/kg) disuelta en agua destilada.
- **Grupo problema:** (DE₅₀) de *U. dioica* a la dosis de 1.5 g/Kg de peso.

La orina se recolectó durante seis horas en jaulas metabólicas individuales a una temperatura ambiente de 22°C, midiéndose la orina excretada a intervalos de 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 360 minutos. La excreción urinaria, acción y actividad diurética se calcularon por medio de las siguientes fórmulas:

$$\text{Excreción urinaria} = \frac{\text{Orina producida}}{\text{Solución fisiológica administrada}} \times 100$$
$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Excreción urinaria grupo tratado}}{\text{Excreción urinaria grupo control}}$$
$$\text{Actividad diurética} = \frac{\text{Acción diurética extracto acuoso}}{\text{Acción diurética fármaco dependencia}}$$

Niveles de excreción de sodio

Los niveles de excreción de sodio fueron cuantificados en base a la orina recolectada después de la administración de las diferentes sustancias según grupo de tratamiento, luego de aplicar el test de Fantus^{9,10}.

Evaluación estadística, variables y escalas de medición:

Los datos recolectados fueron expresados en promedios, porcentajes y desviación estándar, los que se presentan en tablas simples y de doble entrada. El estudio comparativo de los resultados del tratamiento instaurado del grupo control, patrón y problema se resolvió mediante la prueba estadística *t* de student (*t*). Para inferir en base a los resultados se consideró que existe diferencia significativa si $p < 0.05$ ^{12,13,14}.

RESULTADOS

Al observar la distribución de los valores promedios acumulados de volumen urinario de los grupos de animales con el tratamiento instaurado (Tabla 1), se evidenció que al comparar el volumen urinario o denominado diuresis acumulativa a los 360 minutos o 6 horas postingesta, el grupo problema tiene la producción de orina con 11.82 mL y si se compara el grupo control frente al grupo patrón y grupo problema la diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Tabla 1: Valores promedios de volumen urinario a los 30, 60, 90 y 360 minutos post administración de solución salina fisiológica y el tratamiento instaurado.

Grupo de tratamiento	Diuresis		
	Acumulativa (mL)	Significancia p	
Control	7.66		
Patrón	11.06	< 0.05	^{1a}
Problema	11.82	< 0.05	^{1b} > 0.05 ^{1c}

1a: Comparación del grupo patrón y control
1b: Comparación del grupo problema y control
1c: Comparación del grupo problema y patrón

Se encontró que el pH se mantuvo sin variaciones significativas en todos los grupos de tratamiento, mientras que los niveles de excreción de NaCl en la orina de los grupos en estudio se apreció diferencia en contra del extracto de ortiga cuando se contrastó el grupo problema y el grupo control, y si se compara el valor de los niveles de cloruro de sodio en la orina expresado en gramos por litro de orina, (Tabla 2) se aprecia, asimismo, que el valor de la excreción de cloruro de sodio del grupo de ortiga es menor que el grupo de la hidroclorotiazida con diferencia significativa ($p < 0.05$). Este hallazgo nos invita a concluir en base a los propósitos de esta investigación experimental, que el extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* L. “ortiga” aumenta los niveles de producción de orina con aumento del volumen, sin cambios en los niveles de excreción de sodio.

Tabla 2: Valores promedios acumulados de la concentración de hidrogeniones (pH) y cantidad de NaCl en la orina post administración de solución salina fisiológica.

Grupo de tratamiento	Tiempo (minutos)	Niveles acumulativos NaCl (g/L)	Significancia p	
	Orina acumulada			
	pH			
Control	7	2.5		
Patrón	8	4.7	< 0.05 ^{1a}	
Problema	8	3.0	> 0.05 ^{1b}	< 0.05 ^{1c}

1a: Comparación del grupo patrón y control
 1b: Comparación del grupo problema y control
 1c: Comparación del grupo problema y patrón

El comportamiento del extracto hidroalcohólico de *U. dioica* sobre los niveles de excreción urinaria evidenciado en la tabla 01, la excreción urinaria representa el porcentaje (%) en orina del volumen de la ingesta previa durante la experiencia, es decir el grupo control elimina el 218.0% del volumen administrado, el grupo patrón elimina el 321.51% y el extracto de ortiga reporta un porcentaje de excreción urinaria con 337.7% (Tabla 3).

Tabla 3: Valores funcionales de excreción urinaria, acción diurética, actividad diurética y niveles de excreción de cloruro de sodio, según grupo de tratamiento.

Grupo de tratamiento	Excreción urinaria (%)	Acción diurética	Actividad diurética
Control	218.00		
Patrón	321.51	1.47	
Problema	337.71	1.54	1.04

Del mismo modo, en la Tabla 3 aparece el reporte de la acción diurética, es decir la comparación del grupo tratado con *U. dioica* y el grupo control, alcanzando un valor de 1.54 magnitud que indica que el extracto de ortiga, tiene mayor efectividad que el grupo control en la producción de orina, pero menor que el grupo patrón, porque éste alcanza un valor de 1.47 lo que indica que la hidroclorotiazida es mayor que el grupo control en la producción de orina. Asimismo sobre la diuresis, en la tabla aparece la actividad diurética de *U. dioica* comparado con el diurético conocido, como es la hidroclorotiazida, alcanza un valor de 1.04, lo que nos indica que el extracto en estudio tiene mayor actividad diurética que la hidroclorotiazida.

DISCUSIÓN

La nefrona es la unidad anatómica y fisiológica de la función renal, así cuando la sangre llega al glomérulo a través de la arteriola aferente lleva consigo todos los nutrientes absorbidos en el intestino y pasan a este nivel, para el proceso de filtración, la misma que se realiza a través de la cápsula Bowman del glomérulo y el riñón en su conjunto tiene la oportunidad de reabsorber las sales inorgánicas, agua, glucosa y otros nutrientes regulando los niveles homeostáticos de los iones y el agua en el organismo haciendo para ello una reabsorción selectiva. El túbulo proximal reabsorbe los 7/8 de agua y sodio del filtrado glomerular, a este nivel en la base del epitelio celular actúa la bomba de sodio que normalmente extrae el

sodio junto con los iones del cloruro de la célula hacia el capilar vecino y consecuentemente el gradiente eléctrico y la concentración desplaza el sodio y el agua de la luz del túbulo hacia el interior de la célula, la abundancia y el tamaño de las mitocondrias de la base del epitelio celular reflejan la energía gastada por la bomba de sodio⁴.

El estudio experimental del efecto diurético de *Urtica dioica* L. y los niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus* var. *albinus* de acuerdo a los resultados del experimento, los valores centrales del volumen urinario acumulado, producido al cabo de los 360 minutos, están expuestos en la tabla 01, en la que aparecen los tres grupos de animales tratados, los mismos que fueron sometidos a una ingesta previa de 25 mL de agua por kg de peso corporal y luego cada grupo de trabajo se sometió a la ingesta de solución salina fisiológica; el grupo control recibió un volumen de 3.5 mL, el grupo patrón recibió 10 mg/Kg/pc de Hidroclorotiazida en un volumen de 3.40 mL y el grupo problema 1.5 gr/Kg/pc del extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* L. hasta alcanzar un volumen de 3.5 mL.

La administración de una carga hídrica uniformiza y mejora la respuesta de la sustancia probada. El exceso de agua y electrolitos simula una situación de edema, lo que justifica el empleo de este modelo experimental^{17,18}.

Los resultados obtenidos sobre volumen urinario acumulativo (diuresis acumulativa) según grupo de tratamiento confirmarían la hipótesis que el extracto de *Urtica dioica* L. se comporta mejor que el grupo control (7.66 mL) y grupo patrón (11.06 mL), ya que alcanza un volumen acumulativo urinario de 11.82 mL, infiriendo que el extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* L. tiene efectos similares o ligeramente mayor que la hidroclorotiazida, y dicho efecto posiblemente se deba al hecho de que hidroclorotiazida actúa inhibiendo el cotransportador de Na⁺/Cl⁻ en el túbulo contorneado distal de la nefrona. Sobre el particular expresa Page ⁴, los diuréticos tiazídicos producen una diuresis moderada que excretan como máximo el 5% del sodio filtrado, siendo el 90% de éste reabsorbido antes de llegar al túbulo contorneado distal; sin embargo pueden generar hiponatremia y alcalosis metabólica. La porción final del túbulo distal y túbulo colector son los principales sitios de secreción de potasio en el riñón y el transporte de Na⁺ y K⁺ a través de la membrana luminal tiene lugar a través de los canales iónicos en lugar de los transportadores⁴.

En base a los hallazgos similares a hidroclorotiazida reportados se postula que los principios activos que contiene el extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* L. bloquea los canales de sodio de la luz tubular y reducen la diferencia de potencial luminal y en consecuencia disminuye la fuerza impulsora de la secreción de potasio. El efecto neto de *Urtica dioica* L. sería reducir la reabsorción de sodio. El aumento del aporte de sodio al túbulo colector y siendo el sodio un soluto osmóticamente activo, al eliminarse por la nefrona, lleva consigo agua y por lo tanto aumenta la diuresis como en el presente estudio.

Si se comparan los resultados de este estudio con otras investigaciones que han evaluado este efecto a diferentes niveles de dosis, se puede apreciar que muy pocas veces se ha encontrado una correlación positiva entre la dosis y el efecto. En estudios realizados en extractos acuosos de *Bidens pilosa* L. y *Costus cylindricus* Jacq. el efecto no fue dosis dependiente, debido a que la excreción de orina de los grupos tratados a la dosis de 800 mg/kg fue más baja que cuando se trataron con la dosis de 400 mg/kg ¹⁸. En otros estudios se obtuvieron resultados similares al obtenido en el presente estudio, como los reportados por Maykel, Boffil, León y Daud que resultó ser dosis dependiente, acompañada de natriuresis significativas ^{17, 18,19, 20}.

Los resultados obtenidos por *Urtica dioica* L. son inferiores al volumen excretado a las 6 h por otras plantas con acción diurética comprobada como: *Bodoa purpurascens* Cav. (58.2 ± 5.74 mL/kg), *Carica papaya* L. (54.08 ± 10.23 mL/kg), *B. pilosa* (50.22 ± 7.72 mL/kg), *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn (47.98 ± 8.26 mL/kg), *C. cylindricus* Jack (52.89 ± 9.57 mL/kg) y *Capraria biflora* L. (42.71 ± 8.10 mL/kg) ¹⁷.

Existe correspondencia entre el volumen de orina y la concentración de Na⁺, este aspecto es coherente porque los mecanismos de acción de un gran número de fármacos diuréticos es decrecer la reabsorción de este ión, esto produce el arrastre del equivalente osmótico del agua, otra explicación que puede explicar este fenómeno, son las altas concentraciones de iones en las plantas medicinales. Todas las plantas producen altas concentraciones de K⁺ en la orina. Esto puede ser explicado si tenemos en cuenta los informes sobre varias especies vegetales que presentan potasio en su composición, por lo que a la cantidad de este ión excretada debido al efecto diurético de la planta, se sumaría el aportado por el propio vegetal^{18,19,20}.

CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de *Urtica dioica* presenta efecto diurético en *Rattus rattus* var. *albinus*.
- El extracto hidroalcohólico de *U. dioica* aumenta los niveles de excreción de sodio en orina en *Rattus r. albinus*.
- El extracto hidroalcohólico de *U. dioica* aumenta la excreción urinaria, acción diurética y actividad diurética en *Rattus r. albinus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Berne R. Fisiología. 2da edición. Barcelona. Edit. Mosby/Doyma. 1998.
2. Eckert R. Fisiología animal. 3era ed. España: Edit. Interamericana McGraw Hill. 1990.
3. Fanci A, Harrison C. Principios de Medicina Interna. 14ava ed. Vol II. España: Me Graw-Hill-Interamericana S.A. 1998.
4. Page C. Farmacología integrada. España: Edit. Harcourt Brace. 1998.
5. Hardman J, Limbird L. Las bases Farmacológicas de la terapéutica. 9na ed. Mexico: Edit. Graw-Hill Interamericana Editores, S.A de CV. 1996.
6. Mostacero J, Castillo PF, Mejia CF, Gamarra TA, et al. Plantas Medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Trujillo, Perú: Edit. Asamblea Nacional de Rectores, 2011.
7. Huerta J. Ortega mayor *Urtica dioica* L. Medicina naturista 2007; 1(2): 131-137.
8. Gulcin I, Kufrevioglu O, Oktay M, Buyukokuroglu M. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). J Ethnopharmacol. 2004; 90: 205-215.
9. Morshed M, Alam J, Das M, Haque A, Ali L, Rokeya B. Antidiabetic and anti-inflammatory activity of *Urtica dioica* leaves on STZ induced type 1 diabetic model rats. Int J Pharm Sci Res 2011; 2: 1182-1187.
10. Qujeq D, Davary S, Moazzi Z, Mahjoub S. Effect of *Urtica dioica* leaf extract on activities of nucleoside diphosphate kinase and acetyl coenzyme, a carboxylase, in normal and hyperglycemic rats. Afr J Pharm Pharmacol 2011; 5: 792-796
11. Nassiri-Asl M, Zamansoltani F, Abbasi E, Daneshi M, Zangivand A. Effects of *Urtica dioica* extract on lipid profile in hypercholesterolemic rats. J Chin Integr Med 2009; 7: 428-433.
12. Tahri A, Yamani S, Legssyer A, Aziz M, et al. Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. J Ethnopharmacol. 2000; 73: 95-100.
13. Méndez E. Determinación de la actividad diurética de la raíz de *Smilax domingensis* (zarzaparrilla), del fruto de *Averrhoa carambola* L (carambola dulce) y del fruto de *Capsicum annum* (chile pimienta) [Tesis de Químico Farmacéutico]. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala. 2009.
14. Vásquez C. Validación farmacológica de la actividad diurética de hojas de Flor de Muerto (*Tagetes erecta* L.), hojas de Santo Domingo (*Baccharis trinervis* Lam.) y hojas de Matasano (*Casimiroa edulis* Llave. et Lex.) en infusión acuosa [Tesis de Químico Farmacéutico]. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala. 2010.
15. Li P, Matsunaga K, Ohizumi Y. Enhancement of the nerve growth factor-mediated neurite outgrowth from pc12d cells by chinese and paraguayan medicinal plants. Biol Pharm Bull 1999; 22 7: 752- 755.
16. Matsunaga K, Sasaki S, Ohizumi Y. Excitatory and inhibitory effects of paraguayan medicinal plants *Equisetum giganteum*, *Acanthospermum australe*, *Allopylus edulis* and *Cordia salicifolia* on contraction of rabbit aorta and guinea-pig left atrium. Natural Med 1997; 51(5): 478-481
17. Maykel M. Actividad diurética de una decocción de *Costus pictus* D. Don. Rev Cubana Plant Med 2010; 15(2): 3-12
18. Boffil M. Diuretic Activity of five medicinal plants used popularly in Cuba. Pharmacology online. 2006 http://www.unisa.it/download/1966_145_226226808_40.Bofill.pdf
19. Leon MC, Tillán J. Diuretic effect and acute toxicity of *Orthosiphon aristatus* Blume (kidney tea). Rev Cubana Plant Med 1996; 1(3): 30-6.
20. Daud A, Habib M, Sánchez A. Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). Rev Cubana Plant Med 2007; 12(4): 23-28