

Actividad diurética del extracto acuoso de la lima *Citrus limetta* Risso en rata Wistar.

¹Vargas-Solís RC*, ¹Mondragón-Félix A, ¹Figueroa-Torres MG, ²Ferrara-Guerrero MJ y ¹Gallardo-Vargas IC.

Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Depto. El Hombre y su Ambiente. ¹Laboratorio de Fitofarmacología y Ficología. ²Laboratorio de microbiología. Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud. Ciudad de México, CP 04960, Del. Coyoacán. Tel. 5483 7223.

*Email responsable: rvargas@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

Muchas de las enfermedades y dolencias del hombre tienen la solución en la naturaleza. Las plantas han sido utilizadas tanto por curanderos y herbolarios como por farmacéuticos y científicos en la creación de remedios y medicinas. La lima de Persia o *Citrus limetta* Risso, pertenece a la familia de las frutas cítricas como la naranja, el limón y la mandarina, es una variedad con grandes beneficios para la salud. A diferencia del resto de limones y limas, su sabor es ligeramente dulce, por lo que es agradable para su consumo. Posee minerales como el calcio, el fósforo, el potasio o el hierro, y vitaminas B1, B2 y C y bajo contenido en calorías. También contiene fibra, niacina y ácido cítrico. En este estudio se evaluó la actividad diurética del extracto acuoso de la lima *Citrus limetta* aplicado en rata Wistar. Se formaron tres grupos control: un control negativo con solución de Cloruro de sodio 0.9% y dos positivos, uno con furosemida a una dosis de 20 mg kg⁻¹ de peso vivo y otro con hidroclorotiazida a una dosis de 10 mg kg⁻¹ de peso vivo y dos grupos experimentales utilizando extracto de lima, a una dosis de 600 mg kg⁻¹ de peso vivo y otra de 1,500 mg kg⁻¹ de peso vivo en un volumen de 6 mL. Se determinó la concentración de sodio y potasio de la orina acumulada y se hicieron pruebas de toxicidad. Se observó que el extracto acuoso de lima posee actividad hipotensora y que posee un efecto diurético en las dos concentraciones utilizadas. Que la actividad diurética es alta, tomando como referencia a la hidroclorotiazida. Las pruebas de toxicidad mostraron que el extracto no presenta signos de toxicidad. Se cree que la actividad diurética podría ser la responsable de la hipotensión, por lo que sería interesante continuar el estudio para conocer su mecanismo de acción.

Palabras clave: Lima, *Citrus limetta*, diuréticos, hipertensión, toxicidad.

ABSTRACT

Many of human kind diseases or illness have their solution in natural products. Plants have been use by healers and herbalists as pharmaceutics and scientists to make remedies and medicines. The Persian lime or *Citrus limetta* Risso, belongs to citric fruits family like orange, lemon and tangerine. It is a variety with more benefits to health. With respect other lemons and limes, their flavor is slightly sweet so it is nice to consume. This fruit has minerals like calcium, phosphorus, potassium, iron, and vitamins C, B₁ and B₂ and low caloric content. Also has fiber, niacin and citric acid. In this study it was evaluated the diuretic activity of aqueous extract of *Citrus limetta* lime applied to Wistar rats. Three control groups were formed: a) negative control with sodium chloride solution (0.9%), b) positive control with furosemide (20mg kg⁻¹ live weight) and c) positive control with hydrochlorothiazide (10 mg kg⁻¹ live weight), and two experimental groups: d) lime extract (600 mg kg⁻¹ at 6 mL volume) and e) lime extract (1,500 mg kg⁻¹ at 6 mL volume). The sodium and potassium concentrations were determined in accumulated urine and toxicity tests. It was observe that aqueous lime extract possess a hypo tense activity and diuretic effect at two experimental used concentrations. The diuretic activity was high with hydrochlorothiazide reference. The toxicity tests showed that lime extract do not show toxicity signs. We believe that diuretic activity can be responsible of hypo tense values in rats, so it would be interesting to continue this study to know their action mechanism.

Key words: Lime, *Citrus limetta*, diuretics, hypertension, toxicity.

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

INTRODUCCIÓN

Las plantas se han usado en la medicina tradicional como remedios para tratar diferentes patologías debido a que poseen propiedades curativas. Según Aktar et al. (2013) en un documento distribuido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), una planta medicinal es aquella que contiene sustancias que pueden ser usadas para propósitos terapéuticos o como precursor para la síntesis de alguna droga útil para curar alguna enfermedad específica. De acuerdo con esta definición la lima *Citrus limetta* Risso puede ser considerada planta medicinal por sus propiedades antihipertensivas, antimicrobiales y antioxidantes, entre otras.

La lima *C. limetta* es un frutal de la familia Rutaceae, originaria de Asia; habita en climas cálidos, semicálidos y templados, ente los 200 y 2000 metros sobre el nivel del mar. Se cultiva en la República Mexicana en diferentes estados como Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Puebla e Hidalgo, entre otros. Se siembra tanto en huertos familiares como a nivel de producción extensiva para su comercialización.

El árbol de la lima llega a medir hasta ocho metros de altura, sus ramas tienen espinas muy puntiagudas. Posee pequeñas flores de color blanco. Las hojas son ligeramente onduladas de entre 8 y 29 mm de largo con peciolo que pueden ser alados. Los frutos son redondos verde amarillentos, con una pequeña protuberancia en la región donde está la cicatriz de lo que fue el ovario (Fig. 1), miden hasta 6 cm de diámetro y su pulpa es abundante (Argueta-Villamar et al. 1994).

La lima *C. limetta* ha sido ampliamente investigada y los resultados han sido publicado en la literatura científica. Se han hecho estudios de la pulpa, del pericarpio o cáscara, del jugo del fruto y de las hojas; los compuestos aislados más abundantes han sido los flavonoides (Pérez et al. 2010; Aktar et al. 2013; Pérez-Nájera et al. 2013; Rodríguez-Rivera et al. 2014).

Los flavonoides son moléculas orgánicas de bajo peso molecular, que están presentes en las plantas, son pigmentos vegetales no nitrogenados clasificados como polifenoles; se piensa que éstos le confieren a las plantas protección contra la radiación

ultravioleta. En la cáscara de la lima se han detectado aproximadamente 85 moléculas diferentes de estos polifenoles tales como: flavanone-O-glucosides; flavone-C-glucoside; flavonol-O-glucosides; limonoid-O-glucosides; derivados del ácido abscísico; ácido cinnámico y dihidro-cinnamic-glucósidos (limocitrol y derivados de limocitrin), algunos de los cuales fueron detectados por primera vez en la lima (Rodríguez-Rivera et al. 2014). Por su parte, Pérez-Nájera et al. (2013) aislaron fenoles contenidos en el extracto metanólico y determinaron la quercetina, la hesperidina y la naringina, éstas dos últimas en una mayor concentración.



Fig. 1: *Citrus limetta* (Risso) de la población el Vigía, Estado de Morelos.

Del jugo de la lima se han aislado flavonoides como vicenin-2, lucenin-2-4'-methyl ether, eriocitrin, scoparin, orientin-4-methyl ether, rhoifolin, diosmin y hesperidin (Barreca et al. 2011), además de vitamina C (0.2 mg mL^{-1}), azúcares totales (0.566 mg mL^{-1}) y ácido cítrico (Juárez-Consuelo et al. 2005).

Otros investigadores se han dedicado a estudiar la actividad biológica que tienen los compuestos identificados en *C. limetta* y han encontrado que el aceite esencial tiene propiedades antimicrobiales y antioxidantes (Javed et al. 2013) y

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

el extracto etanólico de la cáscara tiene efecto citotóxico probado en un modelo in vivo con *Artemia salina* (Aktar et al. 2013). Kundusen et al. (2011) estudió el extracto metanólico de la cáscara sobre un modelo de rata diabética inducida con streptozotocina, obteniendo una disminución de los niveles de glucosa en sangre en forma significativa. Las hojas de la lima tienen actividad antihipertensiva, a través de la inhibición de la angiotensina II (Pérez et al. 2010, Talha et al. 2011, Esquivel-Gutiérrez et al. 2012). El jugo presenta actividad antioxidante (Barreca 2011) al igual que la cáscara (Pérez-Nájera et al. 2013). Por otra parte, Szent-Gyorgy (1938) fue uno de los primeros investigadores en proponer que los flavonoides tenían efecto sobre la fragilidad de los capilares haciéndolos más resistentes debido a la presencia de la denominada vitamina “p”.

Actualmente se pueden encontrar, en la literatura científica, numerosos trabajos relacionados con la actividad biológica de los flavonoides como son: antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos, antimutagénicos, antimicrobiales, antihipertensivos y anti-ateroesclerótico.

La hipertensión se considera una falla en la homeostasis del organismo y esto puede generar enfermedades cardiovasculares. De acuerdo con la literatura un 90 % de los casos con esta patología se presenta de manera primaria, de origen idiopático y el resto (10 %) se considera como secundaria a una enfermedad como puede ser de tipo endócrino o cardíaca. La hipertensión se considera un factor de riesgo de aterosclerosis porque la presión se eleva en las arterias, lesiona la cubierta endotelial de los vasos y estimula la formación de placas ateroscleróticas, además de que incrementa la tensión que soporta el corazón al aumentar la postcarga.

Muchos tratamientos para la hipertensión se basan en la fisiología cardiovascular, hay fármacos denominados bloqueadores de los canales de calcio; los beta bloqueadores que actúan sobre los receptores β_1 reduciendo la actividad estimuladora de las catecolaminas sobre el volumen sanguíneo; los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), antagonistas de los receptores

a la angiotensina II (ARA II) y los diuréticos tiazidas en bajas dosis que reducen el volumen sanguíneo y que bajan la presión arterial sistólica de 10-15 mmHg y la diastólica de 5-10 mmHg (Silverhorn-Unglaub et al. 2009; Esquivel-Gutiérrez et al. 2012).

Con estos antecedentes y observando que en el estado de Morelos, por tradición, las personas ingieren el té de la cáscara de la lima para disminuir la presión arterial, se decidió iniciar un estudio para conocer la actividad diurética del extracto acuoso de la cáscara de *C. limetta* en rata macho Wistar, considerando que esta podría ser la vía para explicar la disminución en la presión arterial.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Planta.

La lima *C. limetta* fue recolectada en el pueblo denominado el Vigía, a 10 Km de la región de San Felipe Neri, del estado de Morelos, durante los meses de enero a julio del 2015.

Elaboración del extracto acuoso de C. limetta

Se pesaron 52.3 g de la cáscara de *C. limetta* previamente secada y molida y se colocaron en un vaso de precipitado de 1,000 mL, se adicionó agua hirviendo hasta cubrir el polvo y se dejó reposar durante 20 min, terminado este lapso, se filtró por gravedad con ayuda de un embudo cónico y un papel filtro. El filtrado se separó en un vaso de precipitado de 500 mL. Se realizaron dos extracciones más mediante el mismo método. Posteriormente el extracto se liofilizó colocando 35 mL de éste en viales de 100 mL, poniéndolos dentro de un congelador a -70°C ; una vez congeladas las muestras se colocaron en un liofilizador LABCONCO (Freeze Dry System, Freezone 12), a una temperatura de -53°C y a un nivel 2 de vacío. Se dejó el tiempo necesario (aproximadamente 13 días) hasta que en los viales no quedó nada de hielo o líquido, solo el extracto (en forma de polvo).

Animales

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

Se utilizaron 50 ratas machos, producidas en la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio-Bioterio (UPEAL-B) de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco de la cepa Wistar, con un peso de 170-180 g, bajo condiciones controladas de iluminación, agua, alimento de Purina, con períodos de luz-oscuridad de 12:12 horas; temperatura de $21\pm 2^{\circ}\text{C}$; humedad de 55 %; alimentación y agua *ad libitum*. Los animales se distribuyeron al azar, en cinco grupos, cada uno de 10 ratas.

Diseño experimental.

Se formaron tres grupos control cada uno de 10 animales, a saber:

- I. Control negativo: Solución de cloruro de sodio 0.9 %, se administraron 40 ml kg^{-1} de peso (peso vivo).
- II. Control positivo: Furosemida se administró a una dosis de 20 mg Kg^{-1} de peso (peso vivo). La furosemida es un diurético de asa de la familia de las sulfonamidas utilizado en el tratamiento del edema asociado a la insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis y enfermedad renal, incluyendo el síndrome nefrótico. También se utiliza en el tratamiento de la hipertensión ligera o moderada y como adyuvante en las crisis hipertensivas y edema pulmonar agudo. La furosemida es empleada, asimismo, para el tratamiento de la hipercalcemia. Perteneció al grupo de los diuréticos de alto techo (Vademecum, 2010).
- III. Control positivo: Hidroclorotiazida se administró a una dosis de 10 mg kg^{-1} de peso (peso vivo). La hidroclorotiazida es un diurético tiazídico utilizado para el tratamiento del edema y de la hipertensión. En la hipertensión los diuréticos tiazídicos se utilizan a menudo como tratamiento inicial solos o asociados a otros antihipertensivos. La hidroclorotiazida se utiliza asociada a beta-bloqueantes, antagonistas del calcio, inhibidores de la enzima de conversión, antagonistas de la ECA. La hidroclorotiazida también ha sido utilizada en el tratamiento de la diabetes insípida

y de la hipercalciuria, así como en el edema asociado al síndrome premenstrual (Vademecum 2013).

Se formaron dos grupos experimentales, manteniendo el número de 10 organismos por lote y se les aplicó el extracto de lima, en diferentes dosis:

- I.- Se aplicó una dosis de 600 mg kg^{-1} de peso vivo del extracto de lima en un volumen de 6 mL.
- II.- Recibió una dosis de 1500 mg kg^{-1} de peso vivo del extracto de lima en un volumen de 6 mL.

Los animales se colocaron en jaulas y se mantuvieron durante 10 días previos al experimento para su adaptación. Fueron privados de su alimentación 18 horas antes de iniciar el experimento y de agua potable una hora antes (Pérez-Machin et al. 2011).

Una vez tratados los animales se colocaron individualmente en jaulas metabólicas, se les permitió tomar agua durante el experimento. Se registró el volumen de orina a los 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 24 horas después de aplicado el extracto y los controles. Al concluir el experimento se procedió a la eutanasia de los animales mediante una cámara de CO_2 .

Se determinó la concentración de sodio y potasio de la orina acumulada de 24 horas, de los cinco grupos. La determinación se hizo en el laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Veterinaria, en el Departamento de Patología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Pruebas de Toxicidad.

La toxicidad aguda del extracto fue determinada de acuerdo a la Guidelines for the testing of the chemicals (OECD, 2008): test No. 420 (Prueba aguda de toxicidad). Para la prueba se utilizaron 20 ratones macho, de 25-28 g de peso, cepa CD-1, producidos en Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio-Bioterio (UPEAL-B) de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Los animales se distribuyeron en cuatro grupos ($n= 5$), a los animales de cada grupo se le

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

administró el extracto por vía oral, con una cánula metálica; a cada grupo se le aplicó 5, 50, 300 y 2 000 mg kg⁻¹ de peso vivo, respectivamente. Los animales estuvieron en observación durante 14 días, se registró la mortalidad y la conducta. Se pesaron al día 7 y el día 14 de administrado el extracto. Al final del experimento se les hizo la necropsia y se sacrificaron en una cámara de gases.

Evaluación de la actividad diurética del extracto.

La excreción urinaria, acción y actividad diurética se calcularon según las ecuaciones descritas en la literatura (Pérez-Machin et al. 2011).

Fórmulas para el cálculo de las variables relacionadas con la diuresis:

$$\text{Excreción urinaria} = \frac{\text{Orina producida}}{\text{Solución fisiológica administrada}} \times 100$$

$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Excreción urinaria del grupo tratado}}{\text{Excreción urinaria del grupo control}} \times 100$$

$$\text{Actividad diurética (AD)} = \frac{\text{Acción diurética}}{\text{Acción diurética fármaco dependencia}}$$

Escala: Alta= AD ≥ 0.90, Moderada =AD (0.89-0.70), Baja= AD (0.69-0.50), Nula= AD ≤ 0.50

Análisis estadístico

El procesamiento de los datos se hizo con la prueba: All pairs, Tukey HSD con el programa estadístico JMP versión 8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los volúmenes de orina producidos por las ratas de los cinco grupos experimentales se incrementaron gradualmente (Fig. 2 y 3), siendo más altos los valores en los grupos con furosemida,

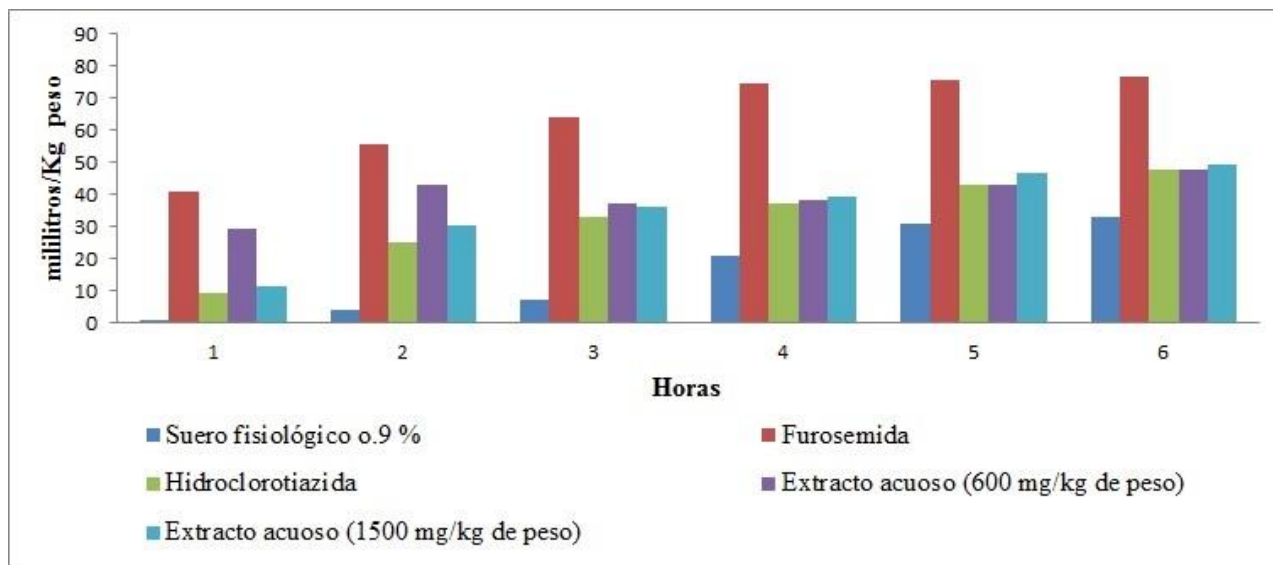
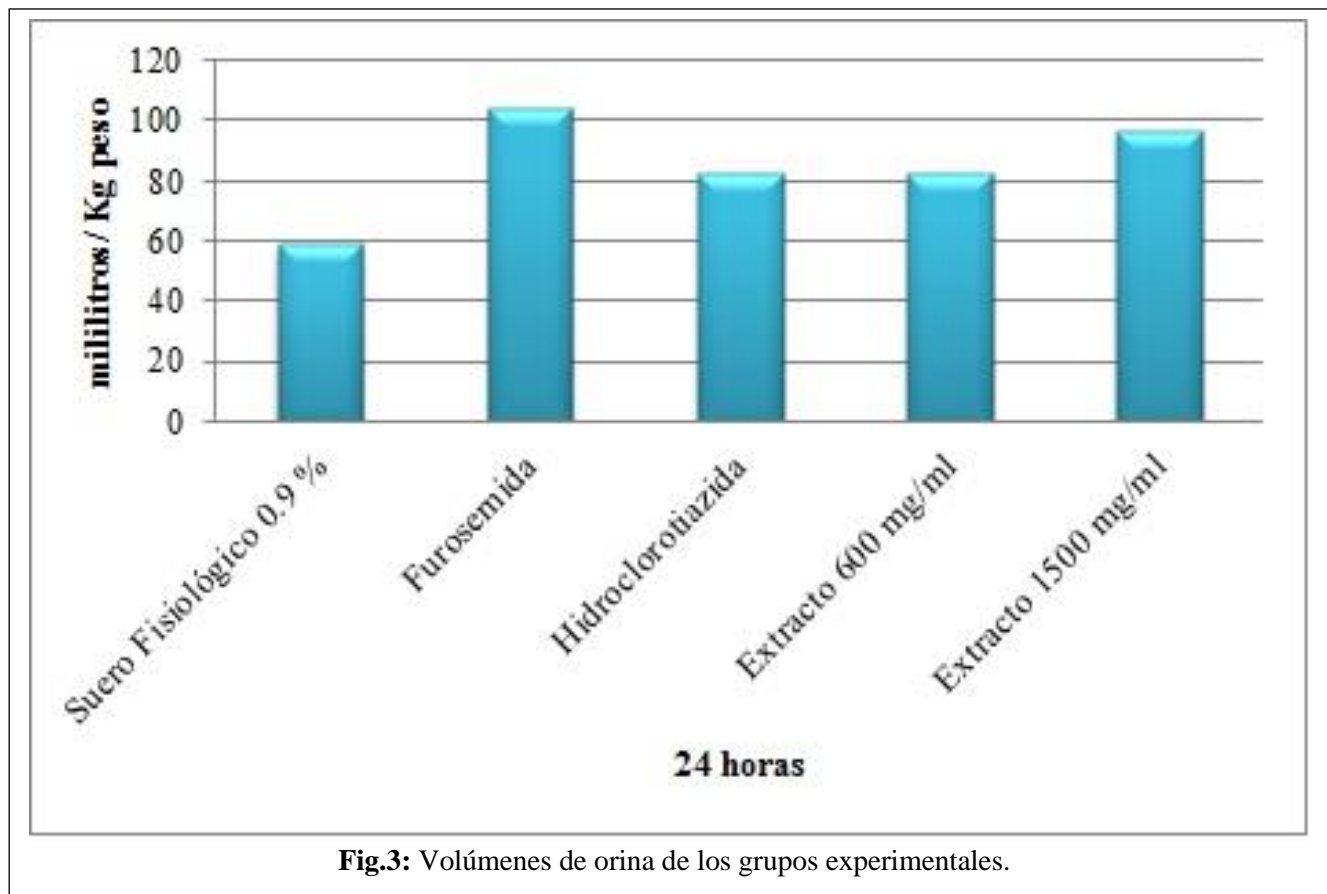


Fig.2: Volúmenes de orina acumulada a las 6 horas (mL Kg⁻¹).

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.



hidroclorotiazida y con los extractos de la cáscara de lima que los del grupo que recibió solución fisiológica al 0.9 % de NaCl (control negativo). Comparando los volúmenes de orina de todos los grupos, el mayor fue el del control positivo que corresponde a la furosemida. El efecto diurético fue muy irregular durante las primeras dos horas y a la tercera excreción de orina fue más uniforme. La diferencia de la iniciación de la actividad diurética de estas sustancias puede estar relacionada con la absorción gastrointestinal característica de los principios activos, sin embargo se observa una respuesta más rápida que los controles. Los volúmenes de orina de los grupos de los extractos y el de hidroclorotiazida tienden a ser semejantes, a partir de la hora tres hasta la sexta. A las 24 horas se observa como el grupo de 1,500 mg kg⁻¹ de peso

tiende a una mayor diuresis por arriba del grupo de 600 mg kg⁻¹ de peso y el de hidroclorotiazida (Lahlou et al. 2007).

Comparando las dos dosis del extracto de la cáscara de lima, la de 1,500 mg kg⁻¹ de peso presentó un volumen mayor de orina, sin seguir una relación lineal, en comparación con la concentración de 600 mg kg⁻¹.

Con respecto a las pruebas estadísticas aplicadas a los resultados de diuresis, entre los grupos tratados con el extracto de la cáscara de lima (600 y 1,500 mg kg⁻¹ de peso) y con los controles de furosemida y de solución fisiológica (Tabla 1), se encontró que a las seis horas muestran diferencias significativas. Por lo que se puede inferir que los extractos responden en forma semejante al control positivo de hidroclorotiazida.

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

Tabla 1: Efecto del extracto acuoso de *C. limetta* sobre la diuresis de rata de la cepa Wistar.

Tratamiento	6 horas	24 horas
Suero fisiológico 0.9 %	32.95 ± 0.6 ^c	59.09 ± 0.8 ^b
Hidroclorotiazida	47.73 ± 1.8 ^b	82.38 ± 1.8 ^b
Furosemida	76.7 ± 1.8 ^a	104.55 ± 4.3 ^a
Lima 600 mg kg ⁻¹ peso	47.73 ± 1.6 ^b	82.28 ± 3.4 ^{ab}
Extracto 1500 mg kg ⁻¹ peso	49.43 ± 2.2 ^b	96.59 ± 4.9 ^a

Por otro lado, existen diferencias significativas ($P < 0.5$), a las 24 horas con el grupo de la cáscara de lima de 1500 mg kg⁻¹ de peso y los controles hidroclorotiazida y solución fisiológica.

La diuresis tiene dos componentes: a) aumento del volumen urinario (excreción de agua) y b) pérdida de solutos (electrolitos) en orina (Lahlou et al. 2007). Estos procesos son producidos por la supresión de la reabsorción tubular renal de agua y electrolitos de la circulación. La furosemida, actúa desde la luz tubular de la porción ascendente de asa de Henle, bloquean de forma selectiva en cotransportador Na⁺/K⁺/2Cl⁻ y por lo tanto, la reabsorción de agua y electrolitos, produce elevada eliminación de Na⁺ (25 %) y Cl⁻, acompañado de

eliminación de K⁺ y aumento de la actividad de la aldosterona. Los diuréticos tiazidas (hidroclorotiazida), actúan en la porción inicial del túbulo contorneado distal donde inhiben el cotransportador de Na⁺ Cl⁻ y aumentan la excreción renal de ambos iones. El resultado es una excreción moderada de Na⁺ (5 – 10%), Cl⁻ y agua; incrementan la eliminación de K⁺ (Morales-Olivas 2013) (Tabla 2).

Para evaluar la actividad diurética del extracto de la cáscara de lima, se presenta en la tabla 3, los resultados experimentales obtenidos, se tomaron como referencia los controles positivos, es decir la furosemida y la hidroclorotiazida, además se presenta la escala para contrastarlos. Se observa que con las dos dosis y en los tiempos de 6 y 24 horas se

Tabla 2: Efecto del extracto acuoso de *C. limetta* sobre la excreción urinaria de la rata cepa Wistar.

Tratamiento	Excreción urinaria	Acción diurética	Excreción urinaria	Acción diurética
Suero fisiológico 0.9 %	96.6		173	
Extracto lima (600 mg kg ⁻¹)	140	1.44	242	1.4
Extracto lima (1500 mg kg ⁻¹)	144	1.49	283	1.64
Furosemida 20 mg kg ⁻¹	225	2.33	306	1.77
Hidroclorotiazida 10 mg kg ⁻¹	137	1.42	187	1.08

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

tienen resultados positivos, siendo el efecto mayor a la concentración de 1,500 mg kg⁻¹ de peso, a las 24 horas comparándolos con la furosemida (0.92). Por otro lado cuando se toma como referencia la hidroclorotiazida la actividad diurética es alta con las dos dosis y en los dos periodos observados, ya que el resultado es mayor a uno. Por lo anterior se puede decir que la actividad diurética de la cáscara de lima es semejante a la de los dos controles positivos que sugiere que esta planta tiene actividad diurética, falta conocer a qué nivel del riñón actúa, por lo que es importante continuar con su estudio.

Los controles positivos se seleccionaron con base a que los dos tipos de diuréticos tienen diferentes mecanismos de acción y se usan para conocer la actividad diurética de una planta, estos resultados son semejantes a los encontrados en los estudios de plantas como: *Tropaeolum majus* (Gasporotto et al. 2009), *Polyporus umbellatus* (Zhang. 2010), *Carum carvi* y *Tanacetum vulgare*

(Lahlou), *Smilax canariensis* (Abdala et al.2008) que se consideran que aumentan la diuresis (Tabla 3).

Se han hecho estudios fitoquímicos de los extractos polares (acuoso y metanólico) de la cáscara de la lima y se han encontrado diversos flavonoides; los que se reportan en mayor cantidad son la hesperidina y naringina, ambos en 90 %, a diferencia de los extractos no polares como el hexano, donde no se encontraron este tipo de moléculas (Pérez-Nájera et al. 2013). Por otro lado, en esta investigación, se utilizó el extracto acuoso, que de acuerdo a lo mencionado, contiene flavonoides y que en la literatura se reporta que las plantas que contienen estas moléculas presentan actividad diuréticas (Trease y Evans 1987, Abdala et al. 2008), este tipo de compuestos incrementan la circulación renal así como la tasa de filtración glomerular lo cual promueve la formación de orina (Abdala. 2008). Por lo que se puede inferir que el efecto diurético del extracto acuoso se debe a este grupo de moléculas.

Al medir las concentraciones de sodio de la orina de las ratas a las 24 horas (Tabla 4), se encontró que no hay diferencias significativas entre los grupos

Tabla 3: Evaluación de la actividad diurética de *Citrus limetta*. Escala: Alta: AD ≥ 0.90, Moderada: AD (0.89 - 0.70), Baja: AD (0.69 - 0.50), Nula: AD < 0.50.

	Extracto lima (6 h)		Extracto lima (24 h)	
	(600 mg kg ⁻¹)	(1500 mg kg ⁻¹)	(600 mg kg ⁻¹)	(1500 mg kg ⁻¹)
Furosemida	0.62	0.64	0.78	0.92
Hidroclorotiazida	1.02	1.05	1.29	1.51

Tabla 4: Concentración de sodio y potasio (mM L⁻¹) de la orina de 24 horas de los grupos experimentales.

Tratamiento	Sodio	Potasio	Na K ⁻¹ media
Suero fisiológico 0.9 %	153.33±11.5	86.67±3.51 ^b	1.77
Hidroclorotiazida	139.67±2.52 ^a	126.67±0.53 ^{ab}	1.1
Furosemida	131.33±16.5 ^a	123.67±9.5 ^{ab}	1.06
Lima 600 mg kg ⁻¹	131.33±16.5 ^a	135.4±12 ^a	1.07
Lima 1500 mg kg ⁻¹	131.33±16.5 ^a	102.6±14 ^{ab}	1.53

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

experimentales y los controles, esto es importante porque se considera a la furosemida como un diurético muy potente razón por la que es usado como un antihipertensivo muy eficiente debido a su rápida absorción y acción al administrarlo por vía oral además aparece en el plasma entre 0.5 y dos horas.

El diurético de hidroclorotiazida, se absorbe bien por vía oral, esta acción está disminuida en personas que tienen insuficiencia cardíaca, su efecto se inicia después de una hora y en el plasma aparece entre 1.5 horas y cuatro. Por su mecanismo de acción va a eliminar más potasio que sodio y bicarbonato reduciendo la eliminación de calcio; este tipo de diuréticos tiene un rango de acción de efecto medio a prolongado, por lo que pueden producir hipopotasemia, además de hiponatremia e hipocloremia y hiperglucemias (Esparza y Diez 1990).

Como se puede ver en la Tabla 4, el extracto de lima en las dos concentraciones, tiene un efecto natriurético, lo que significa que se excretó mayor concentración de sodio que de potasio en la orina; esto se observa al calcular el cociente entre el Na/K^+ en la orina de 24 horas de las ratas experimentales, siendo mayor el cociente a la concentración de 1500 mg kg^{-1} .

Con respecto a las concentraciones de potasio en la orina, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el grupo de solución salina y el grupo de 600 mg kg^{-1} de peso. A la concentración de $1,500 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso, los resultados son semejantes a los obtenidos con los dos controles positivos, es decir se comportan como un diurético tiazida y furosemida. Por otro lado, en los estudios de toxicidad, después de realizar la necropsia a los animales experimentales, se observó que el extracto de la cáscara de lima a las dosis probadas no produjo ningún daño a los tejidos de los ratones, por lo que no resulta tóxico. Por lo que se puede ingerir sin problemas a las dosis usadas en la medicina tradicional.

Se hizo un estudio clínico con el extracto acuoso de las hojas *Citrus limetta* para probar el efecto antihipertensivo en una población de 140 personas y se encontró que después de administrarlo

por seis semanas se redujo la presión arterial en el 90% del grupo experimental, se utilizó como control positivo a la hidroclorotiazida (Cano 2011).

Por lo anterior se considera que el tomar infusión de la cáscara de lima sería una opción para controlar la hipertensión en lugares donde las personas no tienen para comprar sus medicamentos, por lo que no inician o abandonan su tratamiento farmacéutico. Además, otra actividad muy importante que se ha encontrado en la lima, es el evitar la agregación plaquetaria través de la inhibición de la enzima ciclo-oxigenasa y en esta forma evita la trombosis (Pérez et al. 2010).

CONCLUSIONES

- El extracto acuoso de lima tienen un efecto diurético en las dos concentraciones utilizadas.
- La actividad diurética es alta, tomando como referencia a la hidroclorotiazida.
- Los flavonoides como la hesperidina y naringina que se encuentran en la cáscara de lima, podrían ser las moléculas responsables de la actividad diurética (Tripoli et al. 2007).
- Con estudios de separación por cromatografía se podría aislar la o las moléculas responsables de esta actividad.
- Se han publicado trabajos (Argueta et al. 1994, Pérez et al. 2010; Cano 2011; Bidham y Remadevi 2014) donde se reporta la actividad hipotensora de los extractos de la cáscara de lima, y de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo se encontró que la actividad diurética podría ser la responsable de este efecto, por lo que sería interesante continuar el estudio para conocer su mecanismo de acción.
- Algo muy importante que se encontró, es que el extracto acuoso de *C. limetta* no es tóxico de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de evaluación.

BIBLIOGRAFÍA

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

- Abdala S,D, Martin-Herrera, D, Benjumea, P, Pérez.-Paz. 2008. Diuretic activity of *Smilax canariensis*, an endemic Canary Island species. Journal of Ethnopharmacology 119: 12-16
- Aktar SM, M Mamun-Ur rashid y R Abrar-Taisser. 2013. Investigation of cytotoxic potential of ethanolic extract of *Citrus limetta* fruit peel, *Paederia foetida* leaves and methanolic extract of *Cuscuta reflexa*. Journal of medicinal plants studies 1: 34-37.
- Argueta-Villamar A, LM Cano-Asseleih y ME Rodarte. 1994. Atlas de las plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana II. Editado por Instituto Nacional Indigenista 902-903.
- Barreca D, E Belloco, C Caristi, U Leuzzi y G Gattuso. 2011. Flavonoid profile and radical-scavenging activity of mediterranean sweet lemon (*Citrus limetta* Risso) juice. Food Chemistry 129: 417-422.
- Bidham M y R Remadevi. 2014. Anti-hipertensive effect of ayurvedic medicinal plants. International Journal of Ayurveda and Pharmaceutical Chemistry 1: 45-57.
- Cano BTG. 2011 Eficacia del extracto estandarizado de *Citrus limetta* Risso en el tratamiento de hipertensión arterial. Tesis. Facultad de Medicina. Especialidad en Medicina Familiar. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Cano GB. 2011. Eficacia del extracto estandarizado de *C. limetta* en el tratamiento de hipertensión arterial. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Querétaro. México 70p
- Esparza N, J Díez 1990 Farmacología de los diuréticos. Nefrología Volumen X. Suplemento I.
- Esquivel-Gutiérrez ER, R Noriega Cisneros, MA Bello-González, A Saavedra-Molina, R Salgado-Garciglia. 2012. Plantas utilizadas en la medicina tradicional con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo 14 (1): 45-52.
- Gasparotto-Junior A, MA Boffo, EL Botelho-Lourenco, ME Alves-Stefanello, CA Leite Kassuya, MC Andrade-Marques 2009 Natriuretic and diuretic effect of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. Journal of Ethnopharmacology 122: 517-522
- Guowei Z, X Zeng, H Ling, W Jian-an, H Haiding 2010 Diuretic activity and kidney medulla AQP1,AQP2:AQP3, V₂R expression of the aqueous extract of sclerotia of *Polyporus umbellatus* FRIES in normal rats. Journal of Ethnopharmacology 128: 433-437
- Javed S, R Ahmad, K Shahzad, S Nawaz y Y Saleem. 2013. Chemical constituents, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Citrus limetta* var Mitha (sweet lime) peel in Pakistan. African Journal of Microbiology Research 7(24): 3071-3077.
- Juárez-Consuelo C, C Maldonado-Hernández, Goiz-Myolo C y H Jimenez-Island. 2005. Aprovechamiento Integral de la lima dulce (*Citrus limetta*). VII Congreso Nacional de Ciencias de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 34-37 Guanajuato, Gto.
- Kundusen S, P Haldar, M Gupta, U Mazumder, P Saha, A Bala, S Bhattacharya y B Kar. 2011. Evaluation of antihyperglycemic activity of *Citrus limetta* fruit peel in streptozotocin-induced diabetic rats. International Scholarly Research Network Endocrinology 2011:1
- Lahlou S, T. Adil, I. Zafar, L. Badiia 2007. Diuretic activity of the aqueous extract of *Carum carvi* y *Tanacetum vulgare* in normal rats. Journal of Ethnopharmacology 110: 458-463
- Morales OF 2013 Diferencias y similitudes entre diuréticos Hipertensión y Riego Vascular. 30 (suplemento 2) 13-19
- OECD, 2008. Guidelines for the testing of chemicals test No. 420 Acute oral toxicity: Fixed Dose Procedure OECD. Publishing, Paris France. 25-30
- Pérez YY, E Jiménez-Ferrer, D Alonso, CA Botello-Amaro y A Zamilpa. 2010. *Citrus limetta* leaves extract antagonizes the hypertensive effect of angiotensin II. Journal of Ethnopharmacology 128:611-614.
- Pérez-Machin M, ML Sueiro-Oyarsum, MA Bofill-Cárdenas, FJ Morón-R, E Marrero Faz. 2011. Validación de un método *in vivo* para evaluar la actividad diurética. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 30(3): 332-344.
- Pérez-Nájera VC, EC Lugo-Cervantes, M Gutiérrez-Lomelí y CL Del-Toro-Sánchez. 2013. Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima (*Citrus limetta* Risso) y

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.

- determinación de su actividad antioxidante. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 15(3):18-22.
- Rodríguez-Rivera P, E Lugo-Cervantes, P Winterhalter y G Jerz. 2014. Metabolite profiling of polyphenols in peels of *Citrus limetta* Risso by combination of preparative high-speed countercurrent chromatography and LC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry* 158:138-152.
- Silverhorn-Unglaub D, CW Ober, WC Garrison, CA Silverhorn. 2009. *Fisiología Humana*. Editorial Médica Panamericana, 859 pp.
- Szent-Gyorgy A. 1938. Methoden zur erstellung von Citrin. *Physiological Chemistry*, 255: 126-131.
- Talha J, M Priyanka y A Akansksha. 2011. Hypertension and herbal plants. *International Research Journal of Pharmacy*. 2(8): 26-30.
- Trease GE y Evans WC. 1978. *Pharmacognosy*. Tindal, Oxford, Eds. ELSB/Bailliere. 428-429
- Tripoli E, M Guardia, S Giammanco, D Di-Majo, M Giammanco, D Di-Majo, M Giammanco. 2007. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review. *Food Chemistry* 104: 466-479.
- Vademecum, 2010. Monografía revisada el 14 de diciembre de 2010. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT - Argentina). http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/f06_2.htm.
- Vademecum, 2013. Monografía revisada el 2 de junio de 2013. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT - Argentina). <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/h008.htm>.

Extracto acuoso de *Citrus limetta*.

Vargas-Solís RC, Mondragón-Félix A, Figueroa-Torres MG, Ferrara-Guerrero MJ y Gallardo-Vargas IC.