



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Estudio sobre el efecto de 5 plantas hipoglucemiantes
mexicanas sobre la absorción de glucosa intestinal, en
ratas (n-stz) diabéticas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

JAIME BECERRA JIMÉNEZ



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

DIRECTOR DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

2005

m051319



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

... a la Dirección General de Bibliotecas de la
... a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recacional.

NOMBRE: Becerra Jiménez

FECHA: 6-Dic-2005

FIRMA: [Firma]

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: Estudio sobre el efecto de 5 plantas hipoglucemiantes mexicanas sobre la absorción de glucosa intestinal, en ratas (n-stz) diabéticas.

realizado por Becerra Jiménez Jaime

con número de cuenta 09819561-1, quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Adolfo Andrade Cetto [Firma]

Propietario Dr. Rene de Jesús Cárdenas Vázquez

Propietario M. en C. Abigail Aguilar Contreras

Suplente Dra. María Cristina Revilla Monsalve

Suplente M. en C. Armando Gómez Campos

[Firma]
[Firma]
[Firma]
[Firma]

FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo Departamental de Biología

M. EN C. JUAN MANUEL RODRIGUEZ CHAVEZ



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE ECOLOGÍA

Agradecimientos

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto por ser pieza clave en mi formación académica, por permitirme formar parte de un proyecto que me enriqueció como persona.

A mis sinodales Dr. Rene Cárdena Vázquez, M. en C. Abigail Aguilar Contreras, Dra. Ma. Cristina Revilla Monsalve y al M. en C. Armando Gómez Campos, por su tiempo y sus valiosas aportaciones a este trabajo.

Al financiamiento del programa PAPIIT, proyecto INV204703 a cargo del Dr. Adolfo Andrade Cetto, el cual permitió la elaboración de este trabajo.

A Ana, Eddy y Paty por toda su ayuda y la bella convivencia que día a día me brindaron en el laboratorio.

A mi Madre por todo el cariño, apoyo y comprensión que me ha brindado.

A mis hermanos; Rodrigo, Cintya y Victor, por estar en todo momento a mi lado y alentarme a alcanzar mis metas.

A mi Padre, por todo su apoyo.

A Liliana, Miguel, Erick, Juan Carlos, Esteban, Christian y Hugo por su amistad desde el inicio de la carrera y recordarme en todo momento quién soy.

A Amaranta, Astrid, Itzel y Nelly por su ayuda y enseñanzas; y por dejar una profunda huella en mi persona.

A Mayren, por compartirme su amistad y conocimientos.

A la familia Mauro Garza, en especial a Evelia que siempre ha sido mano amiga, en cualquier situación.

A Daniel, Javier y todos los muertos por su ayuda invaluable.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	1
Introducción	3
Modelos animales.....	12
Medicina tradicional	17
Etnofarmacología.....	19
Antecedentes de las plantas utilizadas.....	22
Hipótesis	32
Objetivo.....	33
Material y método	34
Resultados.....	40
Discusión	47
Conclusiones	50
Literatura citada	51
Apéndice I.....	60
Apéndice II.....	70

RESUMEN

En las últimas décadas se ha incrementado la incidencia de pacientes con diabetes tipo 2 en todo el mundo, la Organización Mundial de la Salud estima que el número de personas diabéticas en México se incrementará de 2,179,000 existentes en el año 2000 a 6,130,000 para el año 2030, cerca de un 281% más, en comparación con el incremento mundial del 214% (WHO, 2005). Lo que provoca que la prevención y el tratamiento de la enfermedad sean prioritarios en el ámbito nacional e internacional. Los daños producidos a largo plazo por la hiperglucemia crónica se ven reflejados en problemas micro y macro vasculares que merman la calidad y esperanza de vida de los individuos que padecen esta enfermedad.

Este trabajo evaluó el efecto de cinco plantas hipoglucemiantes; *Cecropia obtusifolia* Bertol, *Equisetum myriochaetum* Schltl. & Cham, *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev, *Malmea depressa* (Baillon) R. E. y *Opuntia streptacantha* Lem. sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal en ratas (n-STZ) diabéticas.

Se probaron los extractos butanólicos de *E. myriochaetum* Schltl. & Cham, *C. obtusifolia* Bertol, *A. panamense* (Benth) Yakovlev y *M. depressa* (Baillon) R. E. Fries; así como dos modalidades, extracto total y filtrado, de *O. streptacantha* Lem.

Los extractos de *C. obtusifolia*, *A. panamense*, *M. depressa* ; así como dos modalidades de extracto de *O. streptacantha*, tuvieron un efecto similar al control positivo, el fármaco acarbosa, un inhibidor de las alfa-glucosidasa intestinales.

El extracto de *E. myriochaetum*, se comportó como el control negativo.

Se caracterizó fitoquímicamente el extracto de *O. streptacantha*; mediante dos pruebas cromatográficas, TLC y HPLC. En la prueba de TLC se encontró únicamente presencia de terpenos. En cuanto a la prueba de HPLC, se encontró un pico único que corresponde a un sólo compuesto, que como se comprobó en la parte farmacológica debe ser el responsable del efecto en la absorción de glucosa a nivel intestinal. Resultado que se aprecia al ver el efecto del extracto filtrado de *O. streptacantha*. El cual se encuentra libre de fibras y material insoluble en agua.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha incrementado la incidencia de pacientes con diabetes tipo 2 en todo el mundo, la Organización Mundial de la Salud estima que el número de personas diabéticas en México se incrementará de 2,179,000 existentes en el año 2000 a 6,130,000 para el año 2030, cerca de un 281% más, en comparación con el incremento mundial del 214% (WHO, 2005). Lo que provoca que la prevención y el tratamiento de la enfermedad sean prioritarios en el ámbito nacional e internacional.

El término diabetes mellitus describe un desorden metabólico de una etiología múltiple, caracterizado por una hiperglucemia crónica, con alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, por defectos en la secreción y/o acción de la insulina (WHO, 1999).

Los daños producidos a largo plazo por la hiperglucemia crónica se ven reflejados en problemas micro y macro vasculares que merman la calidad y esperanza de vida de los individuos que padecen esta enfermedad.

Son varios los procesos patogénicos que se encuentran implicados en el desarrollo de la diabetes; estos van desde una destrucción autoinmune de las células β del páncreas, con la consiguiente deficiencia de insulina, hasta condiciones de resistencia a la insulina. La acción deficiente de la insulina en los tejidos diana es la responsable del metabolismo anómalo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas en la diabetes. Frecuentemente coexisten en el mismo paciente una deficiente secreción de insulina con defectos de la acción de ésta, sin saberse si una de estas anomalías es la consecuencia o la causa de la otra. En cualquier caso, el resultado es la hiperglucemia. Los síntomas de una marcada hiperglucemia incluyen poliuria, polidipsia, pérdida de peso a menudo asociada a polifagia y visión borrosa.

Las complicaciones a largo plazo de la diabetes incluyen la retinopatía con pérdida potencial de visión; la nefropatía que puede conducir a un fallo renal; la neuropatía periférica con el riesgo de ulceraciones, amputaciones y la neuropatía autonómica que puede ocasionar trastornos gástricos y genitourinarios cardiovasculares.

La glucosilación de las proteínas tisulares y otras macromoléculas y la excesiva producción de polioles a partir de la glucosa son dos de los mecanismos que se han propuesto para explicar el daño tisular resultante de la hiperglucemia crónica. Los pacientes con diabetes padecen una mayor incidencia de enfermedades cardiovasculares, arterioscleróticas, vasculares periféricas y cerebrovasculares.

La gran mayoría de los casos de diabetes pueden incluirse en dos amplias categorías etiopatogénicas. En el primer caso, diabetes de tipo I, la causa es una deficiencia absoluta en la secreción de insulina. Los individuos con alto riesgo de desarrollar este tipo de diabetes pueden ser a menudo identificados mediante evidencias serológicas de un proceso patológico autoinmune que se produce en los islotes pancreáticos y también mediante marcadores genéticos. La segunda categoría; diabetes de tipo II, es mucho más prevalente, causada por una combinación de resistencia a la acción de la insulina y de una inadecuada respuesta secretora compensadora. Esta segunda categoría puede estar presente durante muchos años antes de ser detectada una hiperglucemia sin síntomas clínicos, pero suficiente para ocasionar cambios patológicos y funcionales sobre los órganos diana (A.D.A., 2002)

De acuerdo a la W.H.O. (1999) y la A.D.A. (2004) la diabetes se clasifica en:

Tipo 1. Anteriormente se definía como diabetes insulino dependiente, resulta de la destrucción autoinmune de las células β del páncreas. Dentro de los anticuerpos que podemos encontrar están: anticuerpos para las células del islote, anticuerpos

contra insulina, anticuerpos para la ácido glutámico descarboxilasa y anticuerpos para las tirosin fosfatasa IA-2 y IA-2 β

Tipo 2. Resulta de la incapacidad para responder adecuadamente a la acción de la insulina producida por el páncreas. La diabetes tipo 2 es la más común e involucra alrededor del 90% de todos los casos de diabetes en el mundo.

Diabetes Gestacional. Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa reconocida por vez primera durante la preñez . Generalmente después de aproximadamente seis semanas posparto las mujeres vuelven a valores normales en su control glucémico.

Existen otros tipos de diabetes, todos ellos relacionados con trastornos en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, pero su incidencia es menor a los tipos antes mencionados.

Tolerancia anormal a la glucosa (Impaired glucose tolerance -IGT-) y Glucosa anormal en ayuno (impaired fasting glucose -IFG-). Estos términos se refieren al estado metabólico intermedio entre una homeostasis normal de la glucosa y la diabetes como tal. También es referido como prediabetes. La diferencia en estos términos radica en el límite superior de glucosa plasmática; ambos toman como límite de lo normal una concentración de 109 mg/dl de glucosa plasmática en ayuno, para el IGT los individuos con niveles mayores a 110 mg/dl y menores a 126 mg/dl de glucosa plasmática en ayuno presentan este desorden metabólico, en cambio para el IFG el rango va de 110 mg/dl y hasta 140 mg/dl para definir al grupo de individuos con este problema metabólico.

Este estado de prediabetes, es de suma importancia en la actualidad pues se ha demostrado que tiene una prevalencia mayor a la diabetes misma, pero un manejo

adecuado y oportuno puede significar la diferencia entre el desarrollo o no de la diabetes.

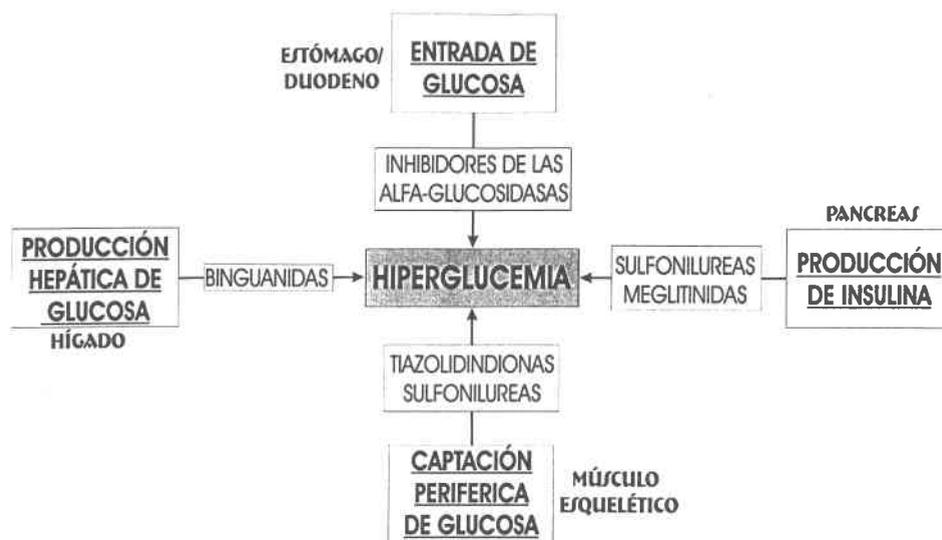
Actualmente a los pacientes diabéticos se les trata en un inicio con dieta y ejercicio, en los casos donde este control no resulta suficiente se recurre a la utilización de hipoglucemiantes orales: binguanidas, sulfonilureas, meglitinidas, tiazolidindionas e inhibidores de las alfa-glucosidas (Tabla 1; Esquema 1), los cuales cubren las principales causas de la hiperglucemia, como son: producción de glucosa hepática, absorción de glucosa a nivel intestinal, deficiencia en la producción de insulina, resistencia periférica a la insulina. Si la terapia con hipoglucemiantes orales no resulta suficiente se implementa la utilización de insulina.

FAMILIA DE FARMACOS	EJEMPLOS	MODO DE ACCIÓN
Sulfonilureas	Glibenclamida, glibepriride, tolbutamida, acetohexamida, tolazamida, clorpropamida	Su mecanismo de acción es el aumento de la estimulación a las células β del páncreas para la liberación de insulina Se utilizan regularmente desde la década de los '50s

<p>Meglitídnas</p>	<p>Replaginida y nateglinida</p>	<p>Similares a las sulfonilureas, son promotores de la secreción de insulina. Tiene una acción en los canales de K dependientes de ATP, lo que resulta en una depolarización de la membrana junto con la exocitosis de insulina. La replaginida no presenta un estimulación de producción de insulina en ausencia de glucosa.</p>
<p>Biguanidas</p>	<p>Metformina, buformina</p>	<p>El mecanismo de acción es la inhibición de la gluconeogénesis hepática. La metformina activa a la AMP-proteína cinasa, un regulador celular del metabolismo de lípidos y glucosa. Como resultado se reduce la actividad de la acetil-CoA y se activa el de la oxidación de ácidos grasos.</p>

<p>Thiazolidinedionas</p>	<p>Rosiglitazona, Troglitazona, Pioglitazona</p>	<p>Como principal mecanismo de acción está la reducción de la resistencia periférica a la insulina y la mejora de la sensibilidad a ésta.</p> <p>Son agonistas selectivos del receptor gamma del activador de la proliferación del peroxisoma, un miembro de la superfamilia de los receptores nucleares de hormonas. Los cuales tienen acción en el metabolismo de glucosa, ácidos grasos y colesterol.</p>
<p>Inhibidores de las alfas - Glucosidasas</p>	<p>Miglitol, Acarbosa</p>	<p>El mecanismo de acción fundamental es la inhibición reversible y competitiva de las α - glucosidasas en el borde en cepillo de la mucosa intestinal, produciendo el retraso en la absorción de los carbohidratos complejos</p>

Tabla 1. Principales Familias de Hipoglucemiantes orales.

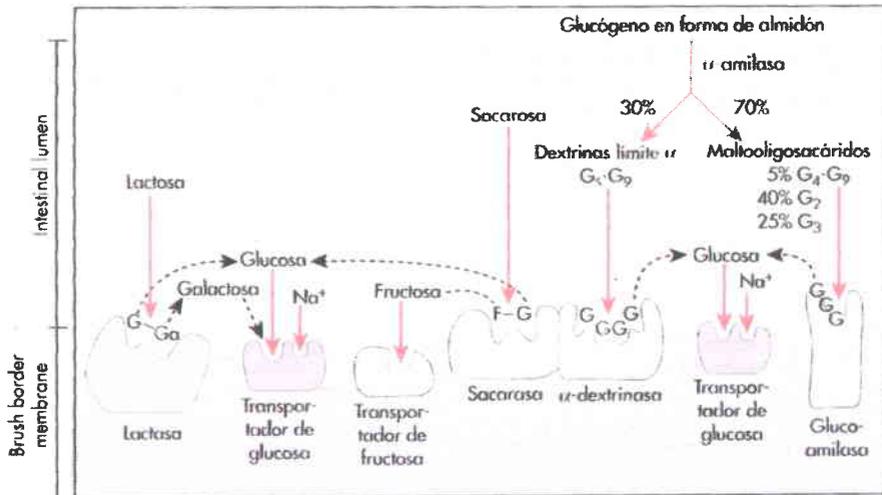


Esquema 1. Principales tratamientos de hipoglucemiantes orales y su blanco

Los inhibidores de las alfa-glucosidasas destacan por ser utilizados, en pacientes diabéticos con un diagnóstico reciente o en aquellas personas que se encuentran en una etapa prediabética, donde el manejo de la glucemia postprandial puede retardar la progresión del paciente a diabetes tipo 2 (Chiasson, 2002).

El reconocimiento de la importancia del manejo de la glucemia postprandial, no es reciente, en 1973 Puls y colaboradores sugirieron el manejo de la hiperglucemia postprandial, a través de la inhibición de las enzimas que degradan los carbohidratos localizados en el tracto digestivo.

Son las enzimas conocidas como alfa-glucosidasas las encargadas del desdoblamiento de los oligo y polisacáridos presentes en la dieta, mediante la hidrólisis de los enlaces para obtener las unidades básicas o monosacáridos. Estas enzimas se encuentran ancladas a la membrana epitelial de los bordes de capillo del intestino delgado (Esquema 2).



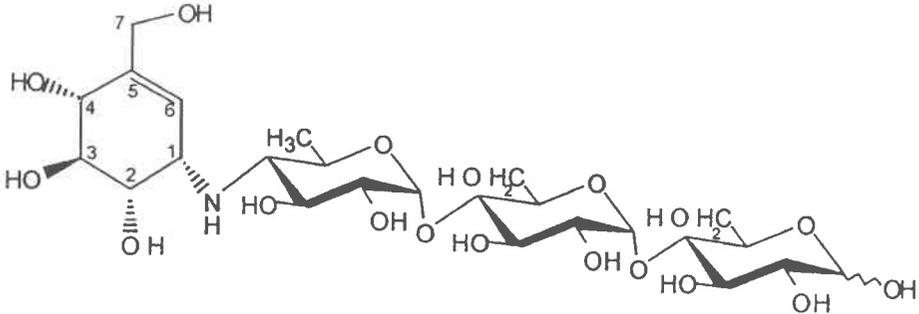
Esquema 2. Principales oligosacaridasas del borde de cepillo del intestina delgado. (Tomado de Gray, G.M. 1975. N Englan J. Med. 229)

La acarbosa es el agente inhibidor de las alfa-glucosidasas, más utilizado en la actualidad. La acarbosa es un pseudoligosacárido, perteneciente a la familia de compuestos llamados C7N aminociclitolos. Estos compuestos generalmente contiene un centro activo (moiety) llamado valienamina.

La acarbosa; O-[4,6-dideoxi-4[1S-(1,4,6/5)-4,5,6-trihydroxi-3-hidroximetil-2-ciclohexen-1-yl]-amino- α -D-glucopiranosil]-(1 \rightarrow 4)-O- α -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)-D-glucopiranosil. Se obtiene de cepas de bacterias del genero *Actinoplanes* .

Estructuralmente la acarbosa es un pseudotetrasacárido (Esquema 3), análogo a la maltotetraosa, y está compuesta por dos partes; primero una estructura de un

pseudodisacárido; la acarviosina (valienaminil-4-amino-4,6-dideoxiglucosa), que está unida a un residuo de maltosa por un enlace α -1,4 (Wehmeier, 2004).



Esquema 3. Estructura de la acarbosa

MODELOS ANIMALES.

La investigación etnofarmacológica requiere de un modelo *in vivo* o *in vitro* que permita reproducir de la manera más fidedigna posible la fisiopatología que pretende atacar mediante fármacos.

En el caso de la diabetes mellitus (DM), es un problema de etiología múltiple, caracterizado por la hiperglucemia producto de deficiencias en el metabolismo de carbohidratos. Para el estudio de esta enfermedad se han propuesto una serie de modelos animales experimentales, que reproducen diferentes aspectos de esta compleja patología.

Existen biomodelos que desarrollan espontáneamente una hiperglucemia; es gracias a factores extrínsecos como la dieta y el ambiente; en conjunto con factores intrínsecos, los genes; que algunos animales; principalmente roedores obesos, manifiestan una deficiencia en el manejo de la glucosa y/o la insulina (Arulmozhi *et. al.*, 2004, Hugués *et. al.*, 2002).

Otro tipo de biomodelos para el estudio de la DM, son aquellos donde las alteraciones fisiológicas son producidas experimentalmente. En este grupo de biomodelos podemos destacar 5 distintas maneras de producción de animales que pueden ser considerados 'diabéticos'.

1 .Métodos químicos.

La administración de estreptozotocina o alloxan, provocan la disminución de la masa de células β del páncreas .

2. Métodos quirúrgicos.

La pancreatectomía es un procedimiento en el cual se extirpa parcialmente la glándula para producir un incremento de la glucemia, producto de la falta de insulina.

3. Lesiones en el hipotálamo ventro medial.

La administración de electrolitos en la zona ventro medial hipotalámica causa lesiones que provocan hiperfagia, hiperinsulinemia y obesidad (Balkan *et. al.*, 1991).

4. Inducción hormonal.

Altas dosis de hormonas como glucagon y glucocorticoides pueden producir hiperglucemia.

5. Manipulación génica.

Animales transgénicos, dotados con múltiples copias de genes para insulina, desarrollan hiperinsulinemia basal crónica respuesta alterada a la insulina y a la glucosa, insulinoresistencia e intolerancia a la glucosa, lo que provoca alteración al metabolismo de carbohidratos (Shiruzi y Sarvetnick, 1991).

Modelo n-STZ

La estreptozotocina (STZ) (esquema 4), 2-deoximetil-nitrosoureaglucopiranosa, es una molécula que produce una toxicidad selectiva en las células β del páncreas, aunque el mecanismo concreto de acción de esta molécula no se encuentra dilucidado completamente se cree que su actividad está relacionada con la presencia de radicales libres que dañan los núcleos, y por consiguiente el DNA, de las células β . Se han propuesto cuatro diferentes mecanismos de acción para la STZ, aunque la combinación de éstos podría ser una mejor aproximación.

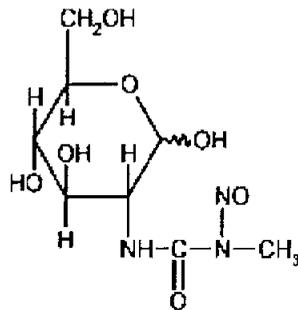
1. Generación de óxido nítrico (NO). El mecanismo por el cual se genera el óxido nítrico se conoce, se considera que resulta de la degradación espontánea de la STZ (Rodríguez *et. al.*, 1999 y Peschke *et. al.*, 2000). Los macrófagos promueven la producción de NO generando la destrucción autoinmune de las células β del páncreas (Rodríguez *et. al.*, 1999, Mordes and Rossini, 1981).

2. Metilación. El proceso de metilación causa fragmentación del material genético (Takaso *et. al.*, 1991). La degradación de la STZ genera iones CH_3^+ que tienen la capacidad de alquilar las bases de ADN, lo que produce ruptura del material; cuando el daño es severo el proceso deriva en la apoptosis de las células β (Rodríguez *et. al.*, 1999 y Saini *et. al.*, 1996).

3. Energía celular. Se cree que la STZ es responsable de un decremento en la disponibilidad de NAD, lo que interrumpe los procesos enzimáticos de las células (Takaso *et. al.*, 1991 y Rodríguez *et. al.*, 1999).

4. Radicales libres. La STZ induce la acumulación de radicales superóxido e hidroxil que fragmentan el ADN, y se ha concluido que el estrés oxidativo tiene importancia en la citotoxicidad de la STZ (Takaso *et. al.*, 1991 y Rodríguez *et. al.*, 1999).

La destrucción de las células productoras de insulina deriva en una patología similar a la de la diabetes Tipo 1, pero al aplicar una dosis calculada se puede prevenir el daño total de los islotes de Langerhans y así producir un modelo apegado a la fisiopatología de la diabetes Tipo 2.



Esquema 4. Molécula de estreptozotocina

El modelo n-STZ aprovecha la capacidad de regeneración del tejido pancreático en las primeras etapas luego del nacimiento de la rata, con una inyección, intraperitoneal o intravenosa (vena sávena) de 100 mg/kg de STZ en el día de nacimiento de la rata se produce una destrucción parcial de las células β lo que provoca una hiperglucemia en los siguientes 3-5 días, que se pierde durante las etapas previas a la adulta donde los animales sobrevivientes (mortalidad del 30%) presentan una patología similar a diabetes tipo 2 (Portha *et. al.* 1974 y 1979).

Como variaciones a este modelo la inyección puede llevarse a cabo en el segundo o quinto día después del nacimiento. Bonnier-Weir en 1981, propone un modelo n2-STZ inyectando con 90 mg/kg de STZ a ratas de la cepa Sprague-Dawley, a diferencia de las Wistar anteriormente utilizadas.

Las diferencias entre los modelos n0-STZ, n2-STZ y n5-STZ, no están bien descritas aunque podemos suponer que están relacionadas con la pérdida de la capacidad regenerativa del páncreas y por lo tanto con variaciones en los niveles de insulina deficiencia, y respuesta a la glucosa.

MEDICINA TRADICIONAL

El término medicina tradicional es una generalización de todas aquellas prácticas medicas, que no forman parte de la medicina alópata convencional y 'moderna'. Dentro de estas prácticas están la medicina tradicional china, el ayurveda hindú, la medicina unani árabe, y las diversas formas de medicina indígena. Pero como toda generalización siempre hay un vacío conceptual que no nos permite precisar en el valor *per se* de los componentes.

Para lograr una definición de la medicina tradicional debemos recurrir a dos puntos, el que la definición sea global e inclusiva tanto como sea posible para abarcar ese abanico de prácticas.

En la estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional 2002-2005, encontramos la primera definición conciliatoria que pudiera verse a este respecto: "prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades"

Si bien todas las formas de medicina tradicional comparten aspectos, como son elementos mágico-religiosos, la implementación de hierbas, animales y minerales y aspectos energéticos; cada una de estas terapias es más que un sistema de salud, es un método de curación que comulga con la idiosincrasia de un pueblo, y es de esta manera que deben ser concebidas por los ojos ajenos.

En México como en muchos países en vías de desarrollo, las prácticas tradicionales han logrado pasar de generación en generación hasta llegar a la actualidad. Su transmisión de manera oral y generalmente familiar, ha implicado

un filtro selector con elementos duales; por un lado es un filtro que de manera lenta pero constante deja fuera información, por olvido, por descuido, etc. Pero por otro lado es este mismo filtrado de la información la que nos puede asegurar de manera casi inequívoca que la información que hoy en día tenemos es la más valiosa pues se ha depurado y tamizado una y otra vez.

La medicina tradicional juega un rol muy importante en algunos sistemas de salud en los países subdesarrollados, y no sólo debemos pensar en ejemplos como Etiopía donde en el 90% de los casos es la medicina tradicional su recurso primario (WHO,2002); en México se estima que más del 64% de la población hace uso de la medicina tradicional para el tratamiento de las enfermedades (Lozoya,1992).

Es por esta cotidiana utilización de la medicina tradicional en el territorio nacional, que es menester realizar investigaciones que nos permitan determinar, en favor de la salud de la población que hace uso de ella; aspectos de accesibilidad, seguridad y eficacia. Investigaciones que como marco rector tendrán la visión integradora y científica de la etnofarmacología.

ETNOFARMACOLOGÍA

La etnofarmacología es un concepto reciente, surgido en la década de los 60's en el ámbito de los agentes psicoactivos. Es con el libro de Efron en 1967: "Búsqueda etnofarmacológica de drogas psicoactivas" que el término adquiere relevancia científica.

La redefinición del campo de estudio de la etnofarmacología y su método se vieron plasmados en la evolución del concepto de la materia; en 1983 Holmstedt y Brunh definen a la etnofarmacología como "La exploración interdisciplinaria de los agentes biológicamente activos tradicionalmente empleados por el hombre". Años después Schultes (1991) vierte una nueva definición como: "La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional". Con este enunciado se puntualizan los sujetos de estudio de la etnofarmacología, así como cada uno de los aspectos que debe comprender un estudio completo.

Es esta documentación e investigación lo que permitirá llevar a nuevas generaciones el conocimiento que a manera de saberes; ha pasado de generación en generación, conocimiento que encierra una ideología e ideocincracia de los pueblos que los concibieron y conservaron.

Todas las civilizaciones y agregados humanos que han existido desarrollaron sistemas de atención médica, los cuales se valieron de los elementos disponibles en su entorno natural; y mediante ensayo y error, lograron identificar de su universo de plantas, animales y minerales un selecto grupo de éstos.

Las plantas formaron un grupo muy rico y diverso en el tratamiento de las enfermedades, las diferentes formas de preparación podían implicar el tratamiento de diferentes afecciones, además de los convenientes en manejo y almacenaje.

Pronto muchas plantas formaron parte del conocimiento colectivo y no eran exclusivas de una persona, fuere cual fuere el nombre que se quiera asignar a esta persona; médico, curandero, hierbero, chaman, etc.

Las plantas más eficaces para las enfermedades recurrentes se sembraron alrededor del domicilio y algunas lograron entrar al hogar para formar reservas que aseguraran su disponibilidad.

Es mediante la etnofarmacología que este conocimiento empírico debe ser evaluado, para detallarlo y documentarlo en términos científicos que permitan el análisis universal del conocimiento local.

La investigación etnofarmacológica debe iniciarse con el planteamiento de un método preciso y definido, que sirva posteriormente para hacer comparaciones entre comunidades de estudio (Heinrich *et. al.*, 1998 y 2002). Una vez diseñado el método y seleccionada la comunidad de estudio correspondiente se debe hacer una documentación del conocimiento de las plantas utilizadas en la localidad; toda planta referida deberá ser correctamente determinada con ayuda de la taxonomía botánica (Andrade-Cetto, 1999) para permitir el valor científico que implica la reproducción del trabajo en cualquier momento.

El análisis fitoquímico subsiguiente permitirá identificar los componentes de la planta, dentro de los cuales se encuentran los posibles principios activos. La interpretación de la actividad biológica de los componentes encontrados deberá hacerse desde la perspectiva del uso tradicional de la planta (Holmsted y Brunh, 1983).

Para poder evaluar la actividad o propiedad medicinal de las plantas, es necesario el establecimiento de un adecuado modelo farmacológico, para probar los

compuestos identificados ya sea de manera aislada o en conjunto (Andrade-Cetto, 1999).

El trabajo de campo que implica la selección del material a trabajar en el laboratorio en los análisis fitoquímicos y farmacológicos; es el primer peldaño a lograr, por lo que una correcta evaluación y discriminación es crucial para iniciar los estudios posteriores.

Resultado de esta observación, al final de este trabajo se presenta el apéndice I, en el cual se trata un caso específico de trabajo etnobotánico, el cual se aborda de manera matemática.

Esta aproximación, que se presenta sólo de manera teórica, pretende salvar los inconvenientes que conlleva una selección arbitraria del material botánico; en los estudios fitoquímicos y farmacológicos.

ANTECEDENTES DE LAS PLANTAS UTILIZADAS.

Las plantas utilizadas en este trabajo fueron seleccionadas por ser plantas previamente estudiadas como agentes hipoglucemiantes en el manejo de la diabetes en el territorio nacional. Y en esta ocasión se emplea un modelo farmacológico que permite explorar otros modos de acción que pudieran atribuirse a la acción de estas plantas. El alcance de los estudios de plantas como agentes inhibidores de las alfa-glucosidasas ha quedado demostrado con los recientes hallazgos que se muestran el Apéndice II al final de este trabajo.

Equisetum myriochaetum Schltldl. & Cham (EQUISETACEAE)

Descripción:

Planta con tallos aéreos de 2 a 5 y hasta 8 metros de alto, con verticilos regulares de las ramas, de 2 a 23 mm de diámetro, acanalados con 16 a 48 canales; vainas del tallo con un radio largo y ancho de 11.5, margen oscuro en el lado superior, el resto del mismo color del tallo, ocasionalmente en los especímenes grandes la base de la vaina obscura; estomas en una línea, en cada lado del surco; ramas con 6 a 8 canales con tubérculos que rodean a los dientes de una sierra, apuntando hacia el ápice; estróbilo terminal en las ramas y en tallo principal, como con un mucrón; estróbilos del tallo de hasta 12 mm de diámetro, estróbilos de las ramas de 10 mm de largo y 4 de diámetro (Palacios, 1998).

Distribución:

Esta especie se distribuye ampliamente en nuestro país, se le encuentra en cañadas, a la orilla de los arroyos, terrenos arenosos y húmedos y sobre laderas calizas con vegetación de bosque mesófilo de montaña, matorral submontano, bosque de Pinos, bosque tropical subcaducifolio, bosque tropical subperenifolio y

bosque de galería, se distribuye en un rango de altura que va de 300 a 2100 m.s.n.m.

Etnobotánica:

Planta utilizada en el manejo de diabetes (Andrade-Cetto, 1999), en general las especies del género *Equisetum* se utilizan para tratar problemas renales y de vías urinarias; así como malestares propios del aparato digestivo como son gastritis, dolor, inflamación, úlcera y vómito (Argueta, 1994).

Antecedentes fitoquímicos:

Del extracto empleado en este trabajo Andrade-Cetto *et.al* (2000) reportan cuatro compuestos derivados del camferol, los autores demostraron que son estos compuestos los presentes en el te medicinal.

Camacho *et.al.* (1992) reportan la presencia de B-sistosterol, pinocembrina, crisina, B-d-glucosistosterol y una mezcla de ácidos grasos compuesta por: ácido laurico, mirístico, pentadecanóico, palmítico, margárico, esteárico, behénico y lignocérico.

Antecedentes farmacológicos:

Con el extracto butanólico utilizado en el presente trabajo Andrade-Cetto *et.al* (2000) realizaron pruebas en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, obteniendo actividad hipoglucemiante.

Pérez (1984) realizó pruebas con ratones, con las que demostró el efecto diurético del extracto clorofórmico a dosis de 50 mg/kg.

Revilla *et. al.* (2002) probó el efecto hipoglucemiante de esta planta en pacientes diabéticos, obteniendo un efecto significativo 90 min. luego de la administración del extracto acuoso.

Cecropia obtusifolia Bertol. (Cecropiaceae)

Descripción:

Árbol monopódico de hasta 20 metros, con tronco derecho, hueco, con pequeños contrafuertes o raíces zancudas de sección circular, con copa irregular, estratificada y con pocas ramas horizontales al tronco. La corteza de color gris claro; las hojas se encuentran dispuestas en espiral y aglomeradas en la punta de las ramas, son simples y peltadas, de color verde oscuro brillante en el haz y grisáceas en el envés. Especie dioica con flores en espigas axilares sostenidas por una bráctea spatiforme caediza, las espigas masculinas son pardo grisáceas, 12-15 de 8-10 cm de largo, espigas femeninas de 4-6 de 13-20 cm de largo. Los frutos son aquenios agregados en las espigas, que contienen una semilla de sabor similar al higo y maduran todo el año (Pennington y Sarukan, 1998).

Distribución:

Tiene un amplia área de distribución en el país; que va desde Tamaulipas y San Luis Potosí hasta Tabasco y Chiapas en la vertiente del Golfo, y desde Sinaloa hasta Chiapas en el Pacífico. Propia de vegetación secundaria de cualquier tipo de selva, excepto en selva baja caducifolia y espinosa (Pennington y Sarukan, 1998).

Etnobotánica:

Se recomienda para el tratamiento de diabetes, así como para problemas de presión arterial, problemas renales en general. También hay reportes de su uso para piquetes de alacrán, quemaduras, como analgésico para el asma, reuma, obesidad y nervios (Argueta, 1994).

Antecedentes fitoquímicos:

Andrade-Cetto y Wiedenfeld en 2001 reportan para el extracto butanólico utilizado en este trabajo la presencia de flavonoides, iso-orientina y ácido clorogénico, otros estudios fitoquímicos han detectado esteroides y taninos además de azúcares como: ramosa, glucosa y xilosa; también se han reportado la presencia de saponinas y fenoles (Trejo, 1983).

Antecedentes farmacológicos:

Andrade-Cetto y Wiedenfeld (2001) demostraron que la iso-orientina y el ácido clorogénico, presentes en el extracto examinado en este trabajo son los responsables de la actividad hipoglucemiante en ratas con diabetes inducida.

Trejo (1983) realizó estudios con ratones CD1 con diabetes inducida por aloxan en el que reporta actividad hipoglucemiante del extracto hexánico de la planta. Otro trabajo hecho con conejos hiperglucémicos demostró la acción hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de la planta (Roman-Ramos, 1991).

Revilla *et. al.* (en prensa) reporta la actividad hipoglucemiante de la planta probada en pacientes diabéticos.

Malmea depressa (Baillon) R. E. Fries (ANNONACEAE)

Descripción:

Arbusto o árbol, usualmente de 10m de altura o menos. Posee corteza gris clara, el tronco de 20 cm o menos de diámetro, las ramas jóvenes son pilosas y se vuelven glabras rápidamente; las hojas jóvenes sobre los peciolo miden de 3-4 mm de longitud, lanceoladas a elípticas, la mayoría de 7 a 12 cm de largo y de 2 a 5 cm de ancho en etapas más avanzadas de desarrollo, agudas a atenuadas-acuminadas, usualmente agudas y desiguales en la base, lustrosas por encima, un poco pilosas en sus estados jóvenes pero conforme envejecen se vuelve glabras, nervaciones prominentes; Inflorescencias terminales u opuestas a las hojas, pedicelos de 1 a 2 cm de longitud, glabros o ligeramente cubiertos de tricomas; los sépalos de redondos a ovalados, obtusos, glabros, de 2 a 3 mm de longitud; los pétalos totalmente ovalados o elípticos, glabros, verdosos, de 18 a 23 mm de longitud; sus frutos son bayas de 1.5 cm de longitud o mas pequeños, elipsoides, rojos, obtusos, glabros (Standley y Steyermark, 1946).

Distribución:

Habita en clima cálido entre los 2 y los 34 msnm. Asociada a vegetación perturbada derivada de bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio (Argueta, 1994).

Antecedentes etnobotánicos:

Los usos medicinales de esta planta se encuentran referidos en la zona sur del país, Quintana Roo y Yucatán, siendo empleada en problemas renales, entre ellos, mal de riñón, cálculos y como diurético. Otros padecimientos en los que se

aplican sus propiedades medicinales son: diabetes, leucorrea y gonorrea (Argueta *et al.*, 1994; Andrade-Cetto *et al.*, 2005).

Antecedentes fitoquímicos:

De la corteza de *Malmea depressa* se han aislado los componentes fenólicos alfa-azarona y otros tres propenilbencenos; además de dos alcaloides parecidos en cuanto a estructura al alcaloide llamado ateroespermidina. Se ha observado que a dosis de 80 mg/kg de alfa-azarona, administrada en rata se producen decrementos de colesterol y triglicéridos (Argueta , 1994). También del extracto clorofórmico (CHCl₃) de la corteza de la parte área se han aislado los siguientes compuestos:

1,2,3,4 - tetrametoxi-5-(2-propenyl) benceno, 2,3,4,5- tetrametoxicinnamaldehido, trans-isomiristicina, 2,3,4,5-tetrametoxicinnamil alcohol y 2,3,4,5-tetrametoxibenzaldehido. Este último presentó actividad inhibitoria de crecimiento en plántulas de diferentes especies (Jiménez *et al.*, 1996).

Andrade-Cetto *et.al.* (2005) reporta dos derivados fenilbutínicos; **(1)** 2-Hidroxi-3,4,5-trimetoxi-1-(2',4'-hidroxi-3'-dihidroxi)butil-benceno; **(2)** 2-hidroxi-3,4,5-trimethoxy-1-(2',3',4'-hidroxi)butil-benceno. Obtenidos de dos diferentes maneras de preparación tradicional de extractos acuosos de la planta.

Antecedentes farmacológicos:

En el trabajo de Andrade-Cetto *et al.* (2005), se encontró actividad hipoglucemiante, de los extractos acuosos, así como del extracto etanólico y butanólico, en ratas con diabetes inducida.

Acosmium panamense (Benth) Yakovlev (FABACEAE)

Descripción:

Árbol de aproximadamente 40 metros de altura, con tronco derecho y ramas descendentes y de copa piramidal. Hojas dispuestas en espiral, imparipinada de 9 a 22 cm de largo, hojas compuestas por 9 a 12 folíolos opuestos o alternos, elípticos o lanceolados, con el margen entero, ápice agudo, base cuneada a redondeada, verde brillante y glabros en el haz. Verde grisáceo y con escasa pubescencia en el envés. Flores en panículas axilares de pétalos amarillos. Sus frutos son vainas aplanadas de 5 a 10 cm de largo de color verde a verde grisáceo, glabras que contienen de 1 a 3 semillas ovoides aplanadas morenas, brillantes (Pennington y Sarukan, 1998).

Distribución:

Se encuentra en la vertiente del Golfo, desde el centro de Veracruz y norte de Oaxaca al sur de Yucatán y Campeche; en la vertiente del Pacífico desde Michoacán hasta Chiapas. Abundante en la selva baja perennifolia (Pennington y Sarukan, 1998).

Antecedentes etnobotánicos:

Auxiliar en el tratamiento de diabetes, así como de malestares del aparato digestivo como son dolor y diarrea, también para afecciones del aparato respiratorio: tos y bronquitis. Dentro de otros usos que se le dan están: dolor de cabeza, espasmos, malaria.

Antecedentes fitoquímicos:

De *Acosmium panamense* se ha aislado panamina (Romo de Vivar, 1985), Balandrin y Kinghorn (1982) aislaron 4-alfa-hidroxi-esparteina. También se detectado 2 derivados de metoxilupinina (Veitch, 1997) así como tres pironas; desmetiliangonina, β -D-O-glucosida, y β -D-O-di(1-6)glucosida (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2004).

Antecedentes Farmacológicos:

Del extracto butanólico que es utilizado en este trabajo Andrade-Cetto y Wiedenfeld (2004) demostraron el efecto agudo sobre la glucemia en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina; del extracto acuoso de partes aéreas Bustamante en 2000 comprobó su actividad hipoglucemiante en un modelo de ratas con diabetes inducida.

Opuntia streptacantha Lem. (CACTACEAE)

Descripción:

Planta arborescente, muy ramosa, hasta de 5 m de altura. Tronco bien definido de hasta 45 cm de diámetro. Artículos obovados a orbiculares, de 25 a 30 cm de longitud, color verde oscuro. Aréolas pequeñas, cercanas entre sí para este grupo. Espinas numerosas, extendidas, blancas; glóquidas color pardo rojizo, muy cortas. Flores de 7 a 9 cm de ancho, amarillas a anaranjadas; sépalos rojizos; filamentos verdosos o rojizos; lóbulos del estigma 8 a 12, verdes. Fruto globoso, de 5 cm de diámetro, rojo oscuro o a veces amarillento, en ambos casos por fuera y por dentro.

Distribución:

En el valle de México, en los estados del Hidalgo, Estado de México y el Distrito Federal, en altitudes de 2300-2700 msnm.

Antecedentes etnobotánicos:

Para reumatismo, quemaduras, infecciones, hidratante de la piel, úlcera estomacal, disentería, diabetes (Argueta, 1994).

Antecedentes fitoquímicos.:

Opuntia forma dos principales compuestos de carbohidratos en los cladodios, los encontrados en el mucílago y las pectinas.

El polisacarido del mucílago y los de las pectinas muestran residuos de ácido, galacturónico, arabinosa, ramnosa, galactosa, xilosa y ácido urónico (Goycoolea, 2003)

De *Opuntia ficus-indica* var. *Saboten*, especie similar a *O. streptacantha*, se aislaron los siguientes compuestos (Lee, 2003):

Flavonoides; caempferol (1), quercetina (2), caempferol 3-metyl ether (3), quercetina 3-metyl ether (4), narcisina (5), (+)-dihydrocaempferol (aromadendrina, 6), (+)- dihydroquercetina (taxifolina, 7), eriodictyol (8).

Terpenoides:(6 S,9 S)-3-oxo-a-ionol-b-D-glucopyranosido (9) y corchoionosido C (10).

Antecedentes Farmacológicos:

En modelos animales existen reportes de una baja en la glucosa postprandial y en los niveles de HbA1c, así como efectos sinérgicos con insulina, usando *Opuntia fuliginosa* (Trejo-González, 1996).

Los trabajos de Frati-Munari et. al. (88,89,90,91) reportan que los individuos tratados con nopal presentan niveles de glucosa menores a los controles; así como menores niveles de insulina. Lo que supone un efecto positivo en la resistencia periférica a la insulina.

HIPÓTESIS

*Si los extractos de las plantas utilizadas tienen un efecto inhibitor sobre las enzimas, alfa-glucosidasas, degradadoras de azúcares complejos, el efecto se apreciará como una reducción en la absorción de glucosa, producto de dicha inhibición.

OBJETIVO

GENERAL

*Evaluar en un modelo animal para diabetes tipo 2, la acción de 5 plantas, ya estudiadas como agentes hipoglucemiantes; como inhibidores de las alfa-glucosidasas.

PARTICULARES

*Probar los extractos butanólicos de: *Equisetum myriochaetum* Schldl. & Cham, *Cecropia obtusifolia* Bertol, *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev y *Malmea depressa* (Baillon) R. E. Fries en ratas diabéticas del modelo de inducción n-stz. Como agentes inhibidores de las alfa-glucosidasas intestinales.

*Probar el extracto de *Opuntia streptacantha* Lem. en dos modalidades total y filtrada en ratas diabéticas del modelo de inducción n-stz. Como agente inhibidor de las alfa-glucosidasas intestinales.

*Caracterizar mediante Cromatografía de Placa Fina (TLC), la presencia de diferentes grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto del cladodio de *Opuntia streptacantha* Lem.

*Determinar por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) los compuestos presentes en los extractos de *Opuntia streptacantha* Lem.

MATERIAL Y MÉTODO

Colecta de material y preparación de extractos

Los extractos butanólicos de *Cecropia obtusifolia* Bertol, *Equisetum myriochaetum* Schltl. & Cham, *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev y *Malmea depressa* (Baillon) R. E. Fries fueron elaborados y estudiados previamente por el Dr. Adolfo Andrade Cetto y se encuentran referidos en sus publicaciones de 2001, 2002, 2004 y 2005 respectivamente. Las plantas cuentan con ejemplares de herbario depositados en el Herbario IMSSM, bajo los números de voucher siguientes: *Cecropia obtusifolia* Bertol, 11496 y 14140; *Equisetum myriochaetum* Schltl. & Cham, 11266; *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev, 14649 y *Malmea depressa* (Baillon) R. E. Fries, 14702 y 14706.

Para el caso de *Opuntia streptacantha* Lem., se colectó en la delegación Milpa Alta del Distrito Federal, en mayo de 2004. También cuenta con su ejemplar de herbario depositado en el Herbario IMSSM, con el número 15048. Los cladodios de la planta fueron molidos en fresco y puestos a ultracongelación a -70°C , para su posterior liofilización.

FITOQUÍMICA

*Cromatografía en capa fina (TLC)

Se realizó esta prueba sólo para el extracto de *O. streptacantha* Lem. debido a que era la única planta de las utilizadas para que hacía falta los datos fitoquímicos que nos permitieran tener la certeza de la presencia de los compuestos presentes en extracto con una posible actividad farmacológica.. Se utilizaron placas de sílica gel 60 F₂₅₄ de 20x20 cm (Merck). De acuerdo a los diferentes grupos de

metabolitos secundarios a identificar se utilizaron los siguientes sistemas de elusión (Tabla 2).

GRUPO DE METABOLITOS SECUNDARIOS	SISTEMA DE ELUSIÓN
Alcaloides	85:14:1 Diclorometano:Metanol:Hidroxido de amonio al 25%
Grupos Fenólicos	49:17:17:17 n-Butanol:n-Isopropanol:Ácido acético:Agua
Terpenos	80:20 n-Hexano:Diclorometano
Azúcares	60:40 Ácido bórico:Acetona

Tabla 2. Sistemas de elusión para la pruebas de cromatografía por grupo de metabolito secundarios.

Para el revelado de las placas se utilizaron, reveladores específicos para cada grupo de metabolitos secundarios; tal como se muestra en la tabla 3.

METABOLITOS SECUNDARIOS	REVELADOR
Alcaloides	Reactivo de Dragendorf
Grupos Fenólicos	Ácido Difencilbourínico + UV
Terpenos	Vainillina + Calor
Azúcares	Anisaldehído + UV

Tabla 3. Reveladores para las cracas cromatográficas.

*CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

Se utilizó la cromatografía de alta resolución para la identificación de los compuestos presentes en los extractos, total y filtrado, de *O. streptacantha* Lem.

Las condiciones del sistema para la identificación de los compuestos fueron las siguientes:

***Columna:** NUCLEOSIL 100-5-C18, EC-250-4

***Fase móvil:** Acetonitril 15: Metanol 15: Buffer Ácido Fosfórico 70.

***Detector:** Luz Ultravioleta

***Tiempo:** 20 minutos

FARMACOLOGÍA

-Animales experimentales

Se emplearon ratas de la cepa Wistar, proporcionadas por el Bioterio de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M. Se trabajó únicamente con ratas hembras con un peso aproximado de 200-250 g. Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas; 25° C de temperatura, 50% de humedad relativa y un fotoperiodo de 12 horas. Las ratas tuvieron acceso *ad libitum* al alimento (Purina Ralston) y al agua, con la salvedad de los días de experimentación en los cuales se requería de ayuno.

Los animales ocupados, fueron individuos con diabetes inducida por el modelo n-STZ; esto para lograr una patología lo más similar posible al padecimiento de diabetes tipo 2.

*Medición de glucosa

Las mediciones de glucosa se efectuaron con dos glucómetros; ACCUTREND GC (Roche) y ACCU-CHECK Sensor (Roche), mediante la utilización de sus respectivas tiras reactivas.

Las muestras de sangre animal se obtuvieron de la vena caudal.

*Grupos experimentales.

Las ratas fueron separadas en 9 grupos experimentales de 11 ratas cada uno, conforme al tratamiento que recibirían. Los tratamientos se muestran en la tabla 4.

GRUPO EXPERIMENTAL	TRATAMIENTO
1-Control (-)	Sol. Maltosa 3g/Kg
2-Control (+)	Acarbosa 3mg/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
3-Experimental (1)	Extracto Bu-OH de <i>Equisetum myriochaetum</i> .096g/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
4-Experimental (2)	Extracto Bu-OH de <i>Cecropia obtusifolia</i> .096g/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
5-Experimental (3)	Extracto Bu-OH de <i>Malmea depressa</i> .096g/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
6-Experimental (4)	Extracto Bu-OH de <i>Acosmium panamense</i> .096g/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
7-Experimental (5)	Extracto Total de <i>Opuntia streptacantha</i> .135g/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
8-Experimental (6)	Extracto Filtrado de <i>Opuntia streptacantha</i> .135g/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg
9-Repaglinida	Repaglinida 4mg/Kg + Sol. Maltosa 3g/Kg

Tabla 4. Grupos experimentales

-Elaboración y administración de Tratamientos

Una vez calculada la dosis correspondiente para cada rata experimental, los extractos, se pusieron en suspensión en solución fisiológica (solución de NaCl 9%).

Para el caso del extracto filtrado de *O. streptacantha* Lem. se utilizó un filtro C18, para eliminar todos los componentes insolubles en agua.

La administración de las soluciones se realizó de la siguiente manera:

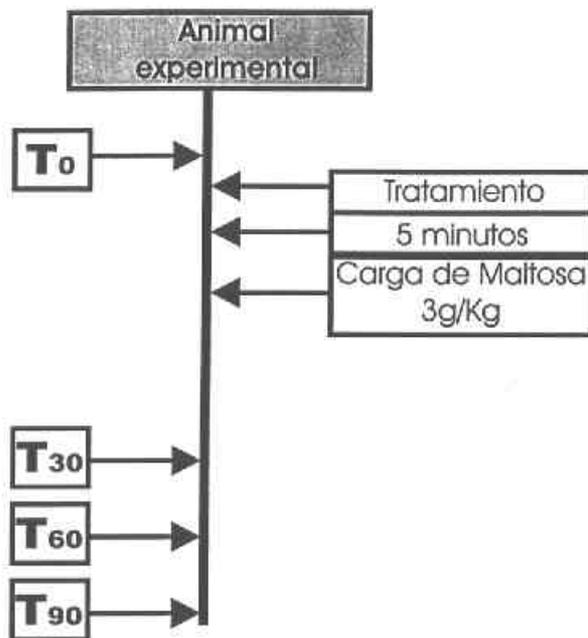
Primero se administró el agente experimental (acarbosa, o los extractos de las plantas) con ayuda de una sonda esofágica que permite asegurar que el tratamiento llegue hasta el tracto digestivo.

Pasados 5 minutos, se les administró a las ratas una solución de maltosa, a una dosis de 3g/Kg. A partir de este momento se tomaron los tiempos para las mediciones subsiguientes.

Las mediciones de glucosa de los grupos experimentales se realizaron en los tiempos 0,30,60,90 minutos; donde T_0 indica la media previa a la administración cualquier tratamiento y T_{30} , T_{60} , T_{90} hacen referencia a la toma de muestras minutos después de la administración del tratamiento (Esquema 5).

Este método es para determinar el nivel glucosa en sangre, proveniente del desdoblamiento de la maltosa administrada.

Como control positivo se empleó el fármaco Acarbosa (Glucobay, Bayer), un agente inhibidor de las alfa-glucosidasas.



Esquema 5. Secuencia del método experimental.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó un prueba de ANOVA y se aplicó un post-hoc de Tuckey. Los datos se consideraron significativos con una $p < 0.05$.

RESULTADOS

-Fitoquímica

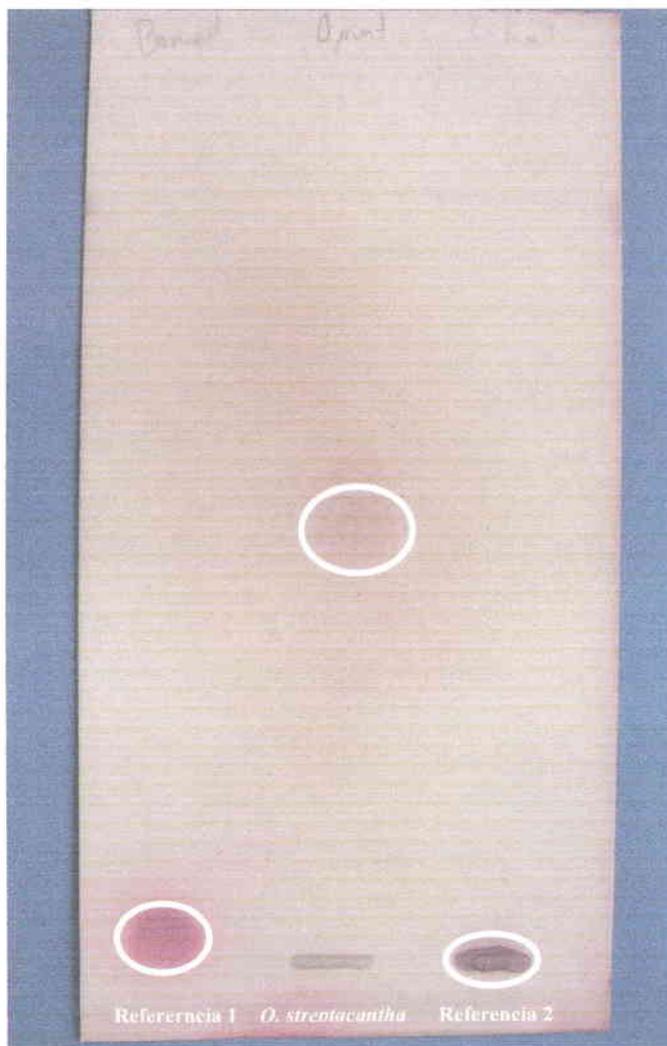
La prueba de Cromatografía en placa fina (TLC), sólo se aplicó para el extracto total de *Opuntia streptacantha* Lem. debido a lo ya descrito.

Con esta prueba no se encontró la presencia de alcaloides, grupos fenólicos ni de azúcares. De los grupos de metabolitos evaluados sólo los terpenos se encontraron presentes en el extracto de *O. streptacantha* (Tabla 5).

METABOLITOS SECUNDARIOS	REVELADOR	EXTRACTO DE <i>Opuntia streptacantha</i>
Alcaloides	Reactivo de Dragendorf	Ausentes
Grupos Fenólicos	Ácido Difenilbourínico + UV	Ausentes
Terpenos	Vainillina + Calor	Presentes
Azúcares	Anisaldehído + UV	Ausentes

Tabla 5. Identificación de metabolitos secundarios para el extracto de *Opuntia streptacantha* Lem.

La placa cromatográfica para identificación de terpenos se muestra en el esquema 6, donde puede observarse la pigmentación, tanto de las dos referencias como de la muestra perteneciente al extracto de *O. streptacantha*.

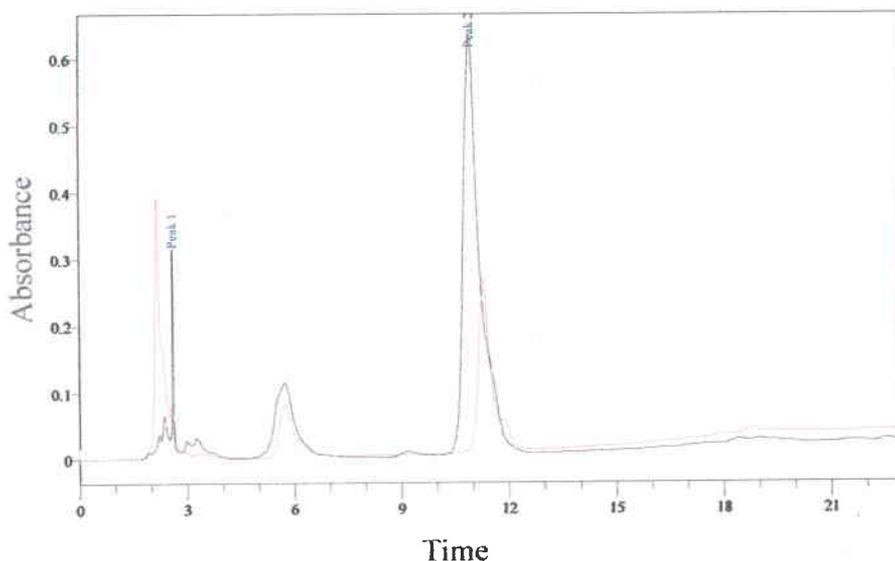


Esquema 6. Placa cromatográfica para identificación de Terpenos
Referencia 1=Borneol ; Referencia 2=Citrol

En lo referente a la prueba de HPLC (Esquema 7), con detección con luz ultravioleta. Se integraron dos picos con el 70% de los muestreos, en las tres modalidades de detección; dos longitudes de onda 220 y 275 (WL) para el extracto filtrado y una longitud de onda, 220, para el extracto total.

El primer pico se interpretó como el eluyente y el segundo como un compuesto en los extractos de *O. streptacantha*. El solapamiento de los tres cromatogramas efectuados y la presencia de los mismos picos en todos ellos nos indica que el compuesto se encuentra tanto en el extracto filtrado como en el total de *O. streptacantha*; los cuales fueron probados en la parte farmacológica de este trabajo.

Opuntia Strep.



Esquema 7. Cromatograma del extracto de *Opuntia streptacantha*
Negro WL 220 -filtrado-; gris WL 275 -filtrado-; Rojo WL 220 -total-.

-Farmacología

De las mediciones de glucosa, con los diferentes tratamientos descritos en la metodología, se obtuvieron los siguientes resultados (tabla 6) Los extractos butanólicos de *C. obtusifolia* Bertol, *A. panamense* (Benth) Yakovlev y *M. depressa* (Baillon) R. E. Fries; así como el extracto de *Opuntia streptacantha* Lem. tienen un efecto significativo sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal, efecto que se observa a partir de los 30 minutos.

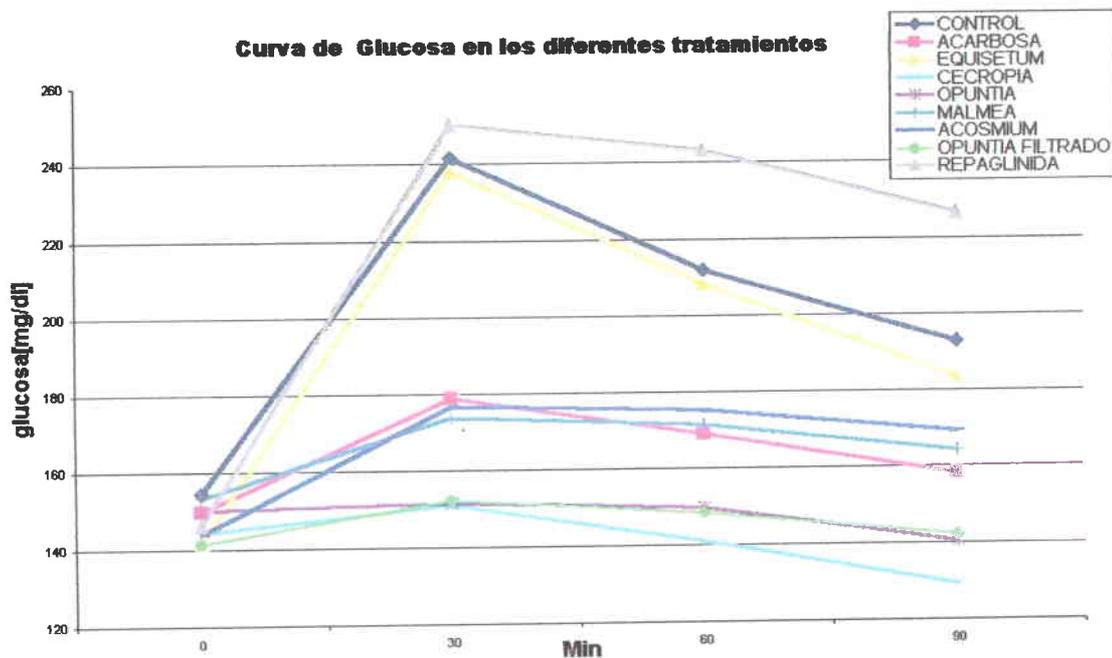
GRUPO/TIEMPO	Media de glucosa [mg/dL] ± error estándar			
	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀
1-CONTROL (-)	154±7	241±12 ^b	212±16 ^b	193±15 ^b
2-CONTROL (+) ACARBOSA	150±6	179±11 ^{a,b}	169±6 ^{a,b}	158±6 ^a
3-Extracto Bu-OH <i>Equisetum myryochaetum</i>	142±5	238±19 ^b	208±20 ^b	184±18 ^b
4-Extracto Bu-OH <i>Cecropia obtusifolia</i>	144±4	151±4 ^a	141±6 ^a	129±6 ^{a,b}
5-Extracto Bu-OH <i>Malmea depressa</i>	153±7	174±10 ^a	172±6 ^{a,b}	164±5
6-Extracto Bu-OH <i>Acosmium panamense</i>	144±4	177±8 ^{a,b}	175±8 ^b	169±8 ^b
7-Extracto Total <i>Opuntia streptacantha</i>	150±2	152±4 ^a	150±6 ^a	140±3 ^{a,b}
8-Extracto Filtrado <i>Opuntia streptacantha</i>	141±3	152±2 ^{a,b}	148±5 ^a	142±4 ^a
9-REPAGLINIDA	146±2	250±12 ^b	243±9 ^b	226±9 ^b

a-muestra diferencias significativas contra el control en el tiempo de muestra

b-muestra diferencias significativas contra T₀ del tratamiento. n= 11

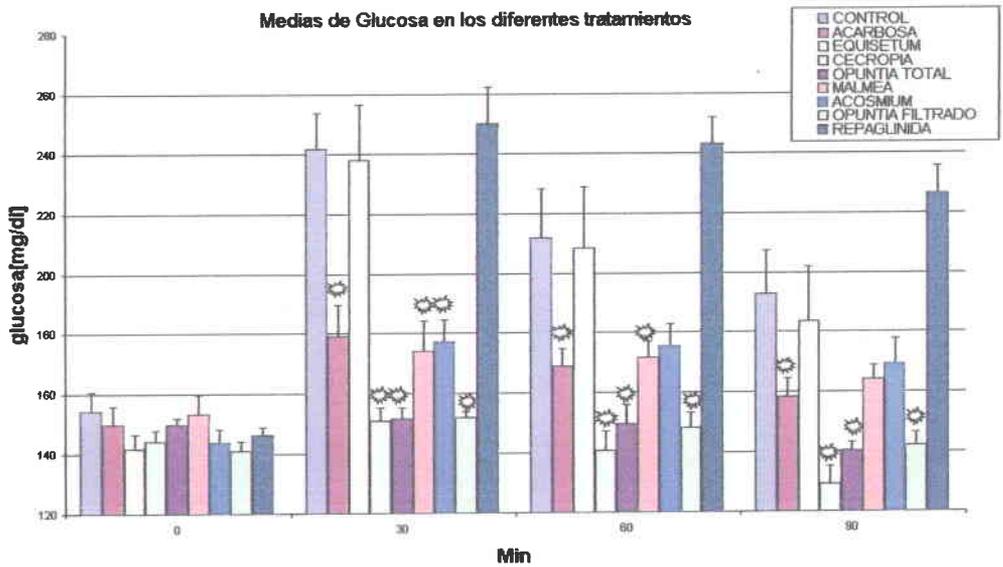
Tabla 6. Medias de los valores de glucosa con su error estándar para los diferentes tratamientos

Las gráficas 1 muestra las curvas de glucosa en sangre, donde se puede observar que el tratamiento con los extractos butanólicos de de *C. obtusifolia* Bertol, *A. panamense* (Benth) Yakovlev y *M. depressa* (Baillon) R. E. Fries; como el extracto de *O. streptacantha* Lem, tienen un efecto similar al obtenido con la acarbosa.



Gráfica 1. Curvas de glucosa en sangre

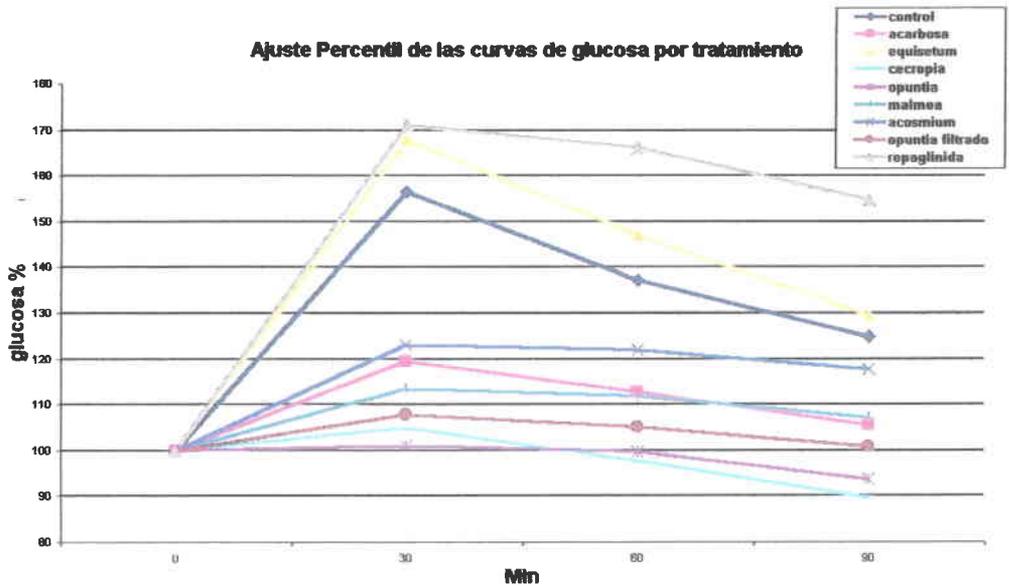
La gráfica 2 muestra las medias de las medidas de glucosa, destacando los tratamientos que tuvieron diferencias significativas contra el control.



Gráfica 2. Comparación entre la absorción de glucosa entre los diferentes tratamientos

*=Expresa una diferencia significativa de $p < 0.05$; $n = 11$, respecto al control, para el mismo

Para tener una mejor percepción del efecto en la absorción intestinal de glucosa, se realizó un ajuste percentil de los datos, y en la gráfica 3 se observa la similitud en el comportamiento en la absorción glucosa de los grupos experimentales de *C. obtusifolia* Bertol, *A. panamense* (Benth) Yakovlev y *M. depressa* (Baillon) R. E. Fries y *O. streptacantha* Lem. con el control acarbosa.



Gráfica 3. Curvas de absorción de glucosa por tratamiento con un ajuste percentil

Los grupos experimentales de *Equisetum myriochaetum* Schldl. & Cham y Repaglinida se comportan de manera similar al control negativo (Gráficas 1, 2 y 3).

DISCUSIÓN

El trabajo presentado, muestra que los extractos butanólicos de *Cecropia obtusifolia* Bertol, *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev y *Malmea depressa* (Baillon) R. E. Fries; así como el extracto de *Opuntia streptacantha* Lem. tienen una actividad, sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal.

Actividad que en el modelo experimental empleado se comporta como el control positivo, el fármaco acarbosa. También se demuestra que no todas las plantas poseen esta actividad, pues el extracto butanólico de *Equisetum myriochaetum* Schtdl. & Cham se comporta como el control negativo.

Las plantas que se utilizaron mediante extractos butanólicos, son plantas que en la literatura se encuentra referida su acción hipoglucemiante en modelos farmacológicos para el estudio de diabetes tipo 2; más aún, los extractos empleados fueron estudiados en su composición química en trabajos publicados anteriormente por Andrade-Cetto y colaboradores (2000, 2001, 2004, 2005), con lo que su constitución se encuentra definida, lo que permite tener la certeza de la presencia de los compuestos activos en los extractos; y este trabajo aporta datos que enriquecen el conocimiento previo de la actividad de estas plantas.

No así el caso de *Opuntia streptacantha* Lem., planta para la cual en este trabajo aporta datos fitoquímicos resultado de las pruebas cromatográficas TLC y HPLC, datos que nos permiten acercarnos a la elucidación de el o los agentes responsables del efecto sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal observado en este trabajo.

La utilización del nopal, como terapia alternativa en el manejo de la diabetes es muy difundida en el territorio nacional, trabajos como los del Dr. Frati Munari a

finales de los años 80 y los del Dr. Roman-Ramos esbozaron el alcance del estudio de esta planta, sin lograr dilucidar un mecanismo de acción concreto.

Las suposiciones iban dirigidas hacia la acción de la fibra contenida en los cladodios como el agente que producía una mejora en la glucemia. Pero con el método empleado para el presente trabajo, se deduce que existe una actividad hipoglucemiante, que debe estar relacionada con los compuestos presentes e identificados por HPLC en el extracto de la planta.

Ya que el extracto total, así como el filtrado libre de fibras, tiene un efecto significativo en la disminución de la absorción intestinal de glucosa. Esto no excluye que el rico contenido en fibra sea un coadyuvante en el manejo de la glucemia, pero deja claro que no es el único mecanismo por el cual *Opuntia streptacantha* produce una mejora en la glucemia postprandial.

Una vez observado el efecto significativo sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal, es necesario implementar nuevos métodos que nos permitan asegurar que la reducción en la absorción es debida a la inhibición de las alfa-glucosidasas, enzimas involucradas en la hidrólisis de oligo y polisacáridos.

Aún así es posible aseverar que *Cecropia obtusifolia* Bertol, *Acosmium panamense* (Benth) Yakovlev, *Malmea depressa* (Baillon) R. E. Fries y *Opuntia streptacantha* Lem., plantas tradicionalmente empleadas en el manejo de diabetes en el territorio nacional, pueden ser empleadas en el tratamiento de pacientes con un diagnóstico reciente o en aquellos que se encuentran en el estado conocido como prediabetes; y con ello retardar o en algunos casos prevenir las complicaciones propias de la diabetes, mediante el control de la glucemia postprandial.

En lo referente a *Cecropia obtusifolia* Bertol, es una planta empleada a lo largo del sureste mexicano. Los estudios han demostrado su actividad como agente hipoglucemiante tanto en animales de laboratorio como en pacientes humanos. Su acción ha sido asociada a la inhibición de la gluconeogénesis hepática; en este trabajo se pone de manifiesto que además de dicha acción tiene actividad en la absorción de sacáridos a nivel intestinal.

Además de que en el caso específico de *Opuntia streptacantha* Lem., es un planta accesible y asequible, a través de todo el territorio nacional, así como de uso seguro. Lo que cumple con los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud para el empleo de terapias alternativas.

CONCLUSIONES.

Los extractos butanólicos de *C. obtusifolia* Bertol, *A. panamense* (Benth) Yakovlev y *M. depressa* (Baillon) R. E. Fries; así como los extractos de *O. streptacantha* Lem. tienen una actividad, sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal.

El efecto de *O. streptacantha* sobre la absorción de glucosa debe estar dado por el compuesto detectado en las pruebas cromatográficas; y no sólo por el rico contenido en fibras.

Los extractos total y filtrado de *O. streptacantha*, poseen el mismo compuesto, tal como lo reveló la cromatografía de alta resolución (HPLC).

Como resultado de este trabajo; *O. streptacantha* y *C. obtusifolia* son plantas con un alto potencial para la obtención de nuevos compuestos que funcionen como inhibidores de las alfa-glucosidasas intestinales.

La futura implementación de modelos *in vitro*, permitirá aseverar que el efecto observado en este trabajo es debido a la inhibición de las alfa-glucosidasas intestinales.

LITERATURA CITADA

- ❖ A.D.A. 2002. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus". *Diabetes Care* 24:S5–S20.
- ❖ A.D.A. 2004. American Diabetes Association. Página de Red: www.diabetes.org; accedida en octubre de 2005.
- ❖ Andrade Cetto, A. 1999. Estudio etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal & Chalm. Y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. 100p.
- ❖ Andrade-Cetto, A., Wiedenfeld, H., Revilla M.C., Islas, A. S. 2000. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 129-133.
- ❖ Andrade-Cetto, A. and Wiedenfeld H. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 78, 145-149.
- ❖ Andrade-Cetto, A. y Wiedenfeld, H. 2004. Hypoglycemic effect of *Acosmium panamense* bark on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 90, 217-20.
- ❖ Andrade-Cetto A. y Hienrich M. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 99, 325-48.

- ❖ Andrade-Cetto, A., Martinez-Zurita, E. and Wiedenfeld, H. 2005. Hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology En Prensa*.

- ❖ Anis E, Anis I, Ahmed S, Mustafa G, Malik A, Afza N, Hai SM, Shahzad-ul-hussan S, Choudhary MI. 2002. Alpha-glucosidase inhibitory constituents from *Cuscuta reflexa*. *Chem Pharm Bull.* 50, 112-4.

- ❖ Argueta, A. Ed.1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. INI, México. 3 Tomos.

- ❖ Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A. and Bodhankar SL. 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal of Pharmacology* 36, 217-2221.

- ❖ Balandrin MF y Kinghorn AD. 1982. (-)-(a-Hydroxysparteine, a new natural product from *Acosmium panamense*. *Heterocycles* 19, 1931–1934.

- ❖ Balkan B, Steffens AB, Bruggink JE, Strubbe JH. 1991. Hyperinsulinemia and glucose tolerance in obese rat on food intake and route of administration. *Metabolism*.40, 1092-100.

- ❖ Bonnier-Weir S, Trent DE, Honey RN, Weir GC.1981. Response to neonatal islets to streptozotocin: Limited β cell regeneration and hyperglycemia. *Diabetes* 30, 64-9.

- ❖ Bustamante Murillo, Maria de los Angeles. 2000. Estudio etnofarmacológico de dos plantas útiles en San Felipe Usila , Oax., en el control de la diabetes tipo II. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 62p.

- ❖ Camacho, M.R.D. Chevez, Mata, R. y Palacios Rios, M. 1992. Chemical studies on mexican plants used in tradicional medicine, XXII. Constituens of *Equisetum myriochaetum* Fitoterapia 63,471-472.

- ❖ Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M; STOP-NIDDM Trial Research Group. 2002. Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet*. Jun 15;359(9323):2072-7.

- ❖ Efron, D.H., Holmstedt, B., and Kline, N.S. 1967. *Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs*. 468 pp.

- ❖ Frati-Munari AC, Rios Gil U, Ariza-Andraca CR, Islas-Andrade S, Chavez-Negrete A. 1988. Effect of various doses of nopal (*Opuntia streptacantha* Lemaire) on the glucose tolerance test in healthy individuals. *Arch. Invest. Med (Mex)*, 19, 143-8.

- ❖ Frati-Munari AC, Altamirano-Bustamante E, Rodríguez-Barcenás N, Ariza-Andraca CR, Lopez-Ledesma R. 1989. Hypoglycemic action os *Opuntia streptacantha* Lemaire: study using raw extracts. *Arch. Invest. Med (Mex)*, 20, 321-5.

- ❖ Frati-Munari AC, Del Valle-Martinez LM, Ariza-Andraca CR, Islas-Andrade S, Chavez-Negrete A. 1989. Hypoglycemic actin of different doses of nopal (*Opuntia streptacantha* Lemaire) in patientswith type II diabetes mellitus. *Arch. Invest. Med (Mex)*, 20, 197-201.

- ❖ Frati-Munari AC, Gordillo BE, Altamirano P, Ariza CR, Cortez-Franco R, Chavez-Negrete A.1990. Acute hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes Care*, 13, 455-6.

- ❖ Frati-Munari AC, Gordillo BE, Altamirano P, Ariza CR, Cortez-Franco R, Chavez-Negrete A, Islas-Andrade S. 1991. Influence of nopal intake upon fasting glicemia in type II diabetics and healthy subjects. Arch. Invest. Med (Mex), 22, 51-6.

- ❖ Goycoolea, F. M. and Cárdenas, A. 2003. Pectins from *Opuntia* spp.: A Short Review. J. PACD, 5, 17-29.

- ❖ Gray, G.M. 1975. N Englan J. Med. 229

- ❖ Heinrich ,M., Ankli, A., Frei, B. Weimann, A. and Sticher, O. 1998. Medicinal plantas in Mexico: Healer's Consensus and Cultural importance. Soc. Sci. Med. 47, 1863-1875.

- ❖ Heinrich, M., A. Ankli, P. Bork, L. Wolfram, P. Bauerfeind, R. Brun, C. Schmid, C. Weiss, R. Brugisser, J. Gertsch, M. Wasescha y O. Sticher. 2002. Yucatec Mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. Journal of Ethnopharmacology 79, 43-52.

- ❖ Holmastedt, B. and Bruhn, J. 1983. Ethnopharmacology-A challenge. Journal of Ethnopharmacology 8, 251-256.

- ❖ Hugués Hermadorena B., Rodríguez García J.C., Rodríguez González J.C. y Marrero Rodríguez M.T. 2002. Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. Revista Cubana Endocrinología 13, 163-72.

- ❖ Iqbal Choudhary, M., Baig, I., Nure-Alam, M., Shahzad-ui-Hussan, S. Ondognii, P. Bunderya, M., Oyun, Z., Atta-ur-Rahman. 2002. Helvetica Chimica Acta. 84, 2409-2416.

- ❖ Jimenez, A., Mata, B., Lotina, B., Anaya, A. y Velasco, L. 1996. Phytogrowth-inhibitory compounds from *Malmea depressa*. *Journal of Natural Products*. 59, 202-204.
- ❖ Kawabata J, Mizuhata K, Sato E, Nishioka T, Aoyama Y, Kasai T. 2003. 6-hydroxyflavonoids as alpha-glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) leaves. *Biosci Biotechnol Biochem*. 67, 445-7.
- ❖ Kiyoteru, T., Shinichi, T., Junichi, K., Shunivhi, Y., Kazuo, L., Kinzo, W., Samisoni. J., Taraiasi, V. Bill, A. 2005. *Jpn. Kokai yokkyo koho*,12.
- ❖ Lee, E., Hyoung, A., Yun, J. K, Changbae, S. S., Kyung-Tae, J., Jungsook, L. C. and Yong, S. L. 2003. Constituents of the Stems and Fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Arch. Pharm. Res*. 26, 1018-1023.
- ❖ Lozoya, X. y Lozoya ,M. 1992. *Flora Medicinal de México. Primera parte: Plantas indígenas*. I.M.S.S. 193p.
- ❖ Mordes, JP. and Rossini, AA. 1981. Animal models of diabetes. *American journal of Medicine*, 70:353-60.
- ❖ Matsuura H, Miyazaki H, Asakawa C, Amano M, Yoshihara T, Mizutani J. 2004. Isolation of alpha-glucosidase inhibitors from hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Phytochemistry*. 65, 91-7.
- ❖ Palacios-Rios,M. 1998. *Equicetaceae*. En Rzedowski,J. De Rzedowski C. (ed). *Flora del Bajío y Regiones adyacentes*. Instituto de Ecología, UNAM. Mex. Pp 1-6.

- ❖ Pennington, T.D y Sarukan, K. 1998. Árboles tropicales de México: Manual para la identificación de las principales especies. UNAM Instituto de Ecología-Fondo de Cultura Económica.
- ❖ Perez, R.M., Ocegueda, A., Muñoz, J.L., Avila, J.G., Morrow, W.W. 1984. A study of the hypoglycemic effect of some mexican plants. *Journal of Ethnopharmacology* 12, 253-262.
- ❖ Peschke, E., Ebel, H., Bromme, H.J. and Peschke, D. 2000. 'Clasical' and 'new' diabetogens –comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57:158-64.
- ❖ Portha B, Levancher C, Picolon L, Rosselin G. 1974. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the prenatal period. *Diabetes* 23, 883-95.
- ❖ Portha B, Picolon L, Rosselin G. 1979. Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. *Diabetologia*.17, 371-7.
- ❖ Puls, W. and Keup, U. 1973. Metabolic studies with an alpha amylase inhibitor (Bay q 7791) on blood glucose, serum insulin and mefa in starch loading test in rat, dogs and man. *Diabetologia*. 9, 97-101.
- ❖ Reaven G.M. 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37, 1595-1607.
- ❖ Revilla MC, Andrade-Cetto A, Islas S, Wiedenfeld H. 2002. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on type 2 diabetic patients. *Journal of Ethnopharmacology* 81, 117-120.

- ❖ Rodriguez, B., Poucheret, P., Battell, M.L., and MacNeil, J.H. 1999. Streptozotocin induced diabetes: induction mechanism (s) and dose dependency. In *Experimental Models of Diabetes*. Ed John H McNeil. CRC press LLC. Chap 1, 3-17.

- ❖ Roman-Ramos, R., Flores, J., Partida, G., Lara, A. y Alarcón, F. 1991. Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Arch. Invest. Med. (Mex)* 87-93.

- ❖ Romo de Vivar A. 1985. *productos naturales de la flora mexicana*. Limusa, México. 220p.

- ❖ Saini, K.S., Thompson, C., Winterford, C.M., Wather, N.I. and Cameron, D.P. 1996. Streptozotocin at low doses induces apoptosis an high doses causes necrosis in a murine pancreatic β cell line INS-1. *Bio. Mol. Bio. Int.* 36:1229-36.

- ❖ Schultes, O.1991. Historical perspective an future of ethnopharmacology. *Journal of ethnopharmacology* 32, 7-24.

- ❖ Shibano, M., Tsukamoto, D., Masuda, A., Tanaka, Y., Kusano, G. 2001. Two new pyrrolidine alkaloids, radicamines A and B, as inhibitors of alpha-glucosidase from *Lobelia chinensis* Lour. *Chem Pharm Bull.* 49, 1362-5.

- ❖ Shiruzi, J.A., Sarvetnick, N. 1991. Transgenic mice for the study of diabetes mellitus. *Trends. Endocrinol. Metab.* 2, 97-104

- ❖ Standley, P. y Steyermark, J. 1946. *Flora de Guatemala. Part IV. Fieldiana Botany* 24, 270-294.

- ❖ Takada, K., Uehara, T., Nakao, Y., Matsunaga, S., Van Soest, R. W. M., Fusetani, N. 2004. Schulzeines A-C, New alpha-Glucosidase Inhibitors from the Marine Sponge *Penares schulzei*. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 187-193.

- ❖ Takasu, N., Komiya, Y., Asawa, T., Nagasawua, Y. and Yamada, T. 1991. Streptozotocin and alloxan induced H₂O₂ ganeration and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator of DNA fragmentation. *Diabetes*, 40:1141-45.

- ❖ Trejo , G.M. 1983. Estudio fitoquímico del Guarumbo (*Cecropia obtusifolia*) como agente hipoglucemiante. Tesis de Licenciatura. ENCB, INP. 55 p.

- ❖ Trejo-Gonzalez A, Gabriel-Ortiz G, Puebla-Perez AM, Huizar-Contreras MD, Munguia-Mazariegos MR, Mejia-Arreguin S, Calva E. 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 55, 27–33.

- ❖ Veitch, N., Goodwin, B.L., Kite, G.C., Simmonds, M.S.J., 1997. Methoxylated quinolizidine alkaloids from *Acosmium panamense*. *Phytochemistry* 45, 847–850.

- ❖ Wehmeier, U.F. y Piepersberg, W. 2004. Biotechnology and molecular biology of the alpha-glucosidase inhibitor acarbose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63, 613–625

- ❖ WHO. 2002. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. 78p.

- ❖ WHO. 1999. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. 59p.

- ❖ WHO.2005. World Health Organization . Página de Red : www.who.int; accedida en octubre de 2005.

APÉNDICE I

Todo trabajo etnofarmacológico tiene su punto de partida con la parte etnobotánica, para la posterior selección de una planta para los estudios fitoquímicos y farmacológicos pertinentes.

Como resultado de un trabajo etnobotánico generalmente se consigue un número elevado de plantas que son utilizadas por la comunidad para el tratamiento y cuidado de la salud. Resulta obvio que no es posible el evaluar todas las plantas que la comunidad reporta por la elevada inversión de esfuerzo humano y económico que ello conllevaría.

Esta problemática no es de reciente apreciación, pero ¿cómo seleccionar de manera objetiva y libre de juicios personales la planta a probar en el laboratorio? Existen aproximaciones matemáticas que pretenden salvar este problema.

La primera aproximación que se puede hacer de los datos etnobotánicos es en referencia al número de menciones de una planta contra el total de menciones del universo de plantas mencionadas.

Este tipo de aproximaciones son la frecuencia simple, la frecuencia relativa y el porcentaje. A continuación se presentan su fórmula.

$$F_x = [(M_x)(100)]/M_t$$

Donde F_x es la frecuencia evaluada para la planta "x", M_x es el número de menciones de la planta para una misma enfermedad, y M_t es el número de menciones totales, es decir de todas las plantas referidas por la comunidad. Como

se aprecia, existe la constante 100, que sirve para representar el valor final en porcentaje.

Otro inconveniente que se tiene al procesar los datos etnobotánicos y realizar la selección de plantas a estudiar en modelos farmacológicos es cuando una planta está referida como tratamiento para dos o mas enfermedades.

Friedman en 1986, desarrolló un algoritmo para evaluar cual es la afección a la que está más vinculada la utilización de la planta. Friedman denominó esta ecuación como el Nivel de Fidelidad (FL), por sus siglas en inglés.

$$FL=(Ip/Iu)100$$

Donde Ip es el número de informantes que de manera independiente reportan el uso de la planta con un propósito particular, y Iu es el número de informantes que reportan el uso de planta para cualquier fin. El FL está referido en porcentaje, por lo que el uso más cercano a 100 indica la aplicación más común.

Otra aproximación para evaluar el acuerdo que existe entre las personas de una comunidad de cómo tratar una enfermedad, es el Consenso del Informante (IAR).

$$IAR= \frac{(TCAS) - (NSRA)}{(TCAS) - 1}$$

En donde **TCAS** es el total de casos de una enfermedad en la muestra; **NSRA** es el número de remedios diferentes para la enfermedad. Esta ecuación tiende a 1 mientras menos remedios existan, para una enfermedad, lo que indicaría que los pocos remedios son efectivos y de amplia aceptación en la comunidad.

Como una modificación al algoritmo anterior, Michael Heinrich(1998) desarrolló el Factor de consenso del informante (ICF), el cual no trata a las enfermedades como unidades de interés, sino que engloba a éstas en diez categorías:

- | | |
|-----------------------|------------------------------|
| *Gastrointestinales | *Enfermedades dolor/febriles |
| *Dermatológicas | *Esqueleto-musculares |
| *Respiratorias | *Oftálmicas |
| *Ginecológicas | *Urológicas |
| *Síndromes culturales | *Cardiovasculares |

Con la siguiente fórmula, evalúa cada categoría, por separado y la categoría que más se acerque a 1, es la mas conocida.

$$Fic = \frac{Nur-Nt}{Nur-1}$$

En la expresión anterior **Nur**, es el número de reportes para la categoría; **Nt** es el número de taxa ocupados para tratar la categoría.

Como se puede apreciar al revisar estas aproximaciones matemáticas, al trabajar con las plantas utilizadas para el tratamiento de una única enfermedad, sólo es posible emplear la frecuencia simple. La cual no resulta satisfactoria completamente ya que podemos interpretar que para este algoritmo todas las plantas tienen los siguientes atributos:

*Las plantas (remedios) se utilizan aleatoriamente

*Tienen igual valor para los empleadores

*El conocimiento es de cada planta mencionada por una persona es igual en todos los casos de mención.

Como resultado del trabajo etnobotánico del grupo del Dr. Adolfo Andrade Cetto, hemos encontrado que estas premisas se encuentran muy lejos de cumplirse en las comunidades de estudio, por lo que nos dimos a la tarea de desarrollar una fórmula matemática que permita replantear estos postulados y evaluarlos en el campo.

Para abordar el problema planteado se rediseñaron los aspectos a evaluar; tanto los teóricos como los referentes a la praxis.

Como antecedentes se plantearon las siguientes aseveraciones, que contrastan con las ocupadas por la frecuencia simple.

*Las plantas (remedios) **no** se utilizan aleatoriamente, existe un uso diferencial o dirigido de un número reducido de plantas.

*Las plantas (remedios) **no** tienen igual valor para los empleadores, los empleadores tienen un aprecio diferencial hacia las plantas utilizadas.

*El conocimiento de cada planta mencionada por una persona **no** es igual en todos los casos de mención.

En la parte práctica estos aspectos se evalúan mediante la correcta elaboración de un cuestionario que refleje estos elementos. Como puntos a valorar se proponen los siguientes ejes.

*Conocimiento de la planta

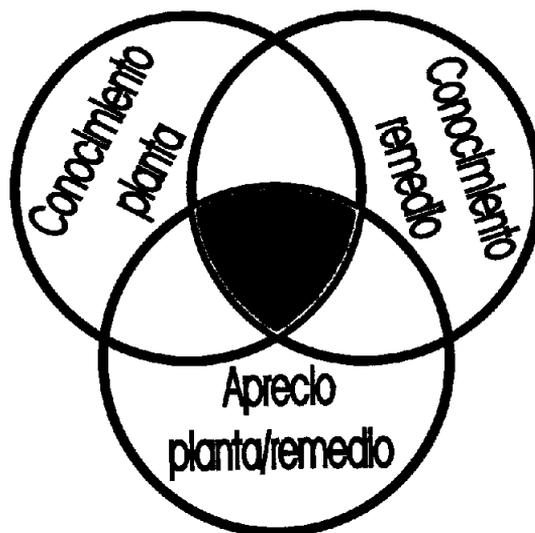
*Conocimiento del remedio

*Aprecio a la planta/remedio.

En el primer rubro “conocimiento de la planta”, se toman en consideración, el dominio de características que permitan al informante saber que está ocupando una planta determinada.

La segunda categoría “conocimiento del remedio” evalúa el manejo de aspectos referentes a la preparación y características del remedio.

Como tercer campo “aprecio a la planta/remedio” se toman en consideración lo relativo a la confianza y aprecio tanto a la planta como al remedio.



Esquema 7. Interacción de los aspectos a evaluar

En el esquema 7 la zona sombreada, representa el máximo solapamiento de los tres aspectos a evaluar, a medida que esta zona crece, se torna en una intersección completa que sería el ideal (esquema 8).



Esquema 8. Interacción ideal

La elaboración y aplicación de un adecuado cuestionario etnobotánico que nos permita indagar en estos tres aspectos axiales, es el primer paso. La elección de preguntas o reactivos que evidencien esta información se deja a criterio del investigador, así como la ponderación o no de las mismas.

La información recavada sobre cada planta, proporcionada por los informantes (*i*), denotará para cada informante el valor de la planta "x" en su universo de plantas para una enfermedad específica.

La evaluación de una planta para la comunidad se realiza a partir de estos datos individuales.

Y es así que podemos suponer que el valor de una planta para la comunidad está referida por dos aspectos.

*El número de menciones de una planta.

*El grado de conocimiento / aprecio.

En la parte matemática estos aspectos se conjugan en la siguiente expresión

$$V_x = \left(\sum_{i=1}^{\infty} V_{xi} / C_c \right) mV_x$$

Donde V_x representa el valor de la planta "x", por la comunidad para el tratamiento

de una enfermedad específica; $\sum_{i=1}^{\infty} V_{xi}$, representa la suma de los valores

individuales dados por cada informante para la planta "x", esto quiere decir la suma de los valores resultado de la aplicación del cuestionario etnobotánico. Que con base en nuestra suposición no es igual para todos y cada uno de los informantes, sino que es resultado de la integración de los aspectos evaluados por el cuestionario.

El factor mV_x , es la media estadística de los valores V_{xi} , lo que en realidad representa una proporción del conocimiento entre la ocurrencia. En otras palabras del total de personas que reportan la planta "x" para el tratamiento de una enfermedad, el valor de conocimiento promedio es mV_x .

La valor **Cc**, representa al coeficiente de correlación, una constante que permite integrar y comparar todas las plantas mencionadas por la comunidad, en referencia al número de menciones.

Por lo que **Cc** es el número máximo de menciones obtenido por una planta en el muestreo. Éste surge del supuesto de que con el número muestral (cuestionarios realizados) si las plantas fueran empleadas aleatoriamente, éste sería el número de menciones de todas y cada una de las plantas referidas.

Si suponemos que la planta más mencionada es la mejor conocida y apreciada; y no así el resto de las otras plantas, tenemos:

* V_{xi} de la planta ideal tiende a ∞ , conforme la muestra crece.

* V_{xi} del resto de las plantas tiende a $\delta < \infty$, conforme la muestra crece.

* mV_x de la planta ideal tiende a 1

* mV_x del resto de las plantas se encuentra en el intervalo [0,1]

* **Cc** es igual al número de menciones de la planta ideal

* **Cc** > que el número de menciones del resto de las plantas

* V_x tiende a 1 para la planta ideal

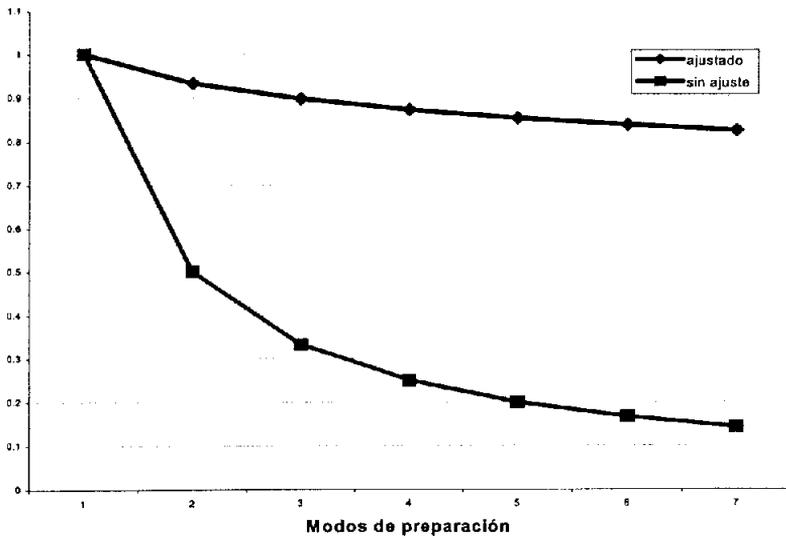
Como las aseveraciones anteriores aplican para un "ideal" y el trabajo de campo no es así, el algoritmo *ut supra* prevé esto, y equilibra los aspectos ideales, sin favorecer a la planta más mencionada ni a la mejor conocida y apreciada, sino a aquella que presente un balance de estos dos aspectos. Esto se logra mediante las dos referencias; la media mV_x , que alude al conocimiento y el **Cc** que alude a las menciones.

Como otro aspecto a valorar, en el conocimiento tradicional del uso de las plantas en el tratamiento de enfermedades, se encuentra las variaciones en el modo de preparación y las partes usadas (**pw**).

Para integrar esta dispersión en la fórmula anterior, suponemos que a mayor diversidad en el modo de preparación y partes usadas menor es la fidelidad de la información lo que representa un menor aprecio o conocimiento.

Esta variación la incorporamos como una razón inversa. Es decir $1/pw$. Pero si tomamos pw , tal cual, el impacto de la dispersión en los modos de preparación es muy grande; con dos modos de preparación el valor de la planta se evalúa como 50%, y con tres modos de preparación se estima en un 33%.

Para minimizar este impacto, realizamos un ajuste tomando la raíz décima del valor de modos de preparación, de esta manera el decremento es atenuado (gráfica 4).



Gráfica 4. Comparación de tasa de decremento

Valiéndonos de las leyes de los exponentes, cambiamos la raíz décima por el exponente 0.1, y la razón inversa la adicionamos expresando este exponente en negativo.

$$V_x = \left(\left(\sum_{i=1}^8 V_{xi} / C_c \right) mV_x \right) p w^{-0.1}$$

Con este algoritmo es posible evaluar de manera práctica y objetiva los remedios utilizados por una comunidad para el tratamiento de una enfermedad o condición específica.

APÉNDICE II

Inhibidores de las alfa-glucosidasas obtenidos de fuentes naturales.

Dentro de las opciones terapéuticas para el tratamiento de la diabetes tipo 2, los inhibidores de las alfa-glucosidasas destacan por ser el grupo empleado en el tratamiento de pacientes prediabéticos o recién diagnosticados.

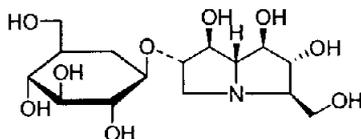
Con la investigación etnofarmacéutica, que parte de las prácticas de medicina tradicional y evalúa estos conocimientos con el rigor científico, en los últimos años se ha logrado aislar, caracterizar y probar en modelos *in vitro* o *in vivo*, una variedad de compuestos producidos por organismos, principalmente plantas.

Son los metabolitos secundarios de gran interés en la investigación, particularmente en el desarrollo de terapias para la diabetes.

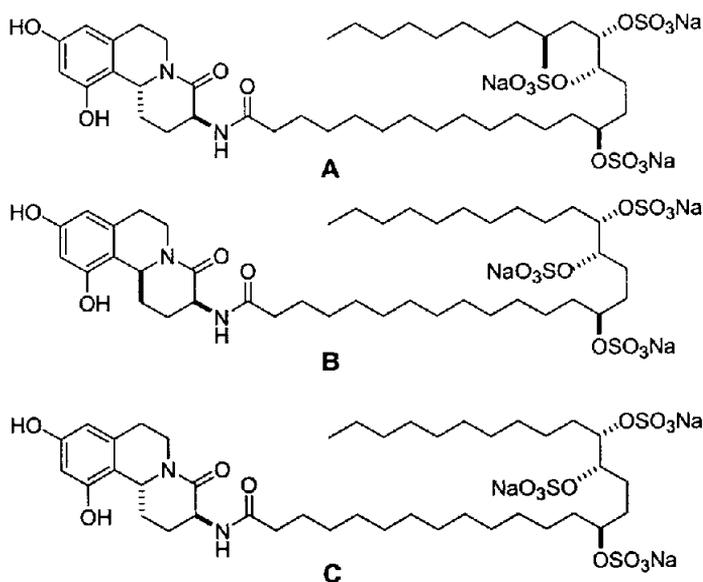
A continuación se presenta una compilación, por grupo de metabolitos secundarios, de los más recientes agentes inhibidores de las alfa-glucosidasas extraídos de fuentes naturales.

Alcaloides

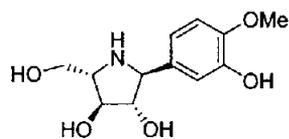
Casuarine 6-O- α -glucosido, aislado del extracto metanólico de la corteza de *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry (Myrtaceae) (Kiyoteru *et. al.*, 2005).



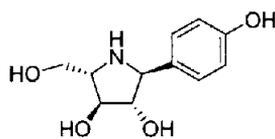
Tres nuevos alcaloides isoquinolinicos, schulzeinas A, B y C fueron aislados de la esponja marina *Penares schulzei*. Su estructura es a partir de dos aminoácidos y un ácido graso C₂₈ el cual está sulfatado (Takada *et. al.*, 2004).



Las radicaminas A y B, dos alcaloides pirrolidinicos fueron aislados de *Lobelia chinensis* (Campanulaceae), y ambos muestran actividad inhibitoria de las alfa-glucosidasas (Shibano *et. al.*, 2001).



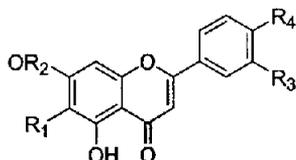
A



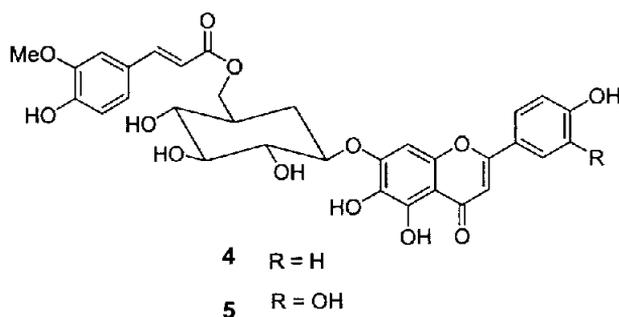
B

Flavonoides

Cinco 6-hidroxi-flavonoides, 6-hidroxiapigenina (**1**), 6-hidroxiapigenin-7-O- β -D-glucopiranosida (**2**), 6-hidroxiluteolin-7-O- β -D-glucopiranosida (**3**), 6-hidroxiapigenin-7-O-(6-O-feruloil)- β -D-glucopiranosida (**4**), y el 6-hidroxiluteolin-7-O-(6-O-feruloil)- β -D-glucopiranosida (**5**), fueron aislados del extracto metanólico de las hojas de *Origanum majorana*; y todos ellos muestran actividad inhibitoria a las alfa-glucosidasas intestinales de rata (Kawabata *et. al.*, 2003).



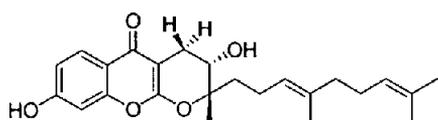
	R1	R2	R3	R4
1	OH	H	H	OH
2	OH	β -D-Glc	H	OH
3	OH	β -D-Glc	OH	OH



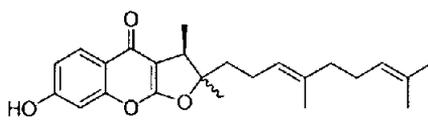
Terpenos

De *Ferula mongolica* se aislaron ocho derivados de sesquiterpenos, los cuales fueron probados como agentes inhibidores de las alfa-glucosidasas (IAG).

Sus nombres y estructuras se presentan a continuación; rel-(2R,3R)-2-[(3E)-4,8-dimetilnona-3,7-dienil]-3,4-dihidro-3,8-dihidroxi-2-metil-2H,5H-pirano[2,3-b][1]benzo piran-5-ona (1), rel-(2R,3R)-2-[(3E)-4,8-dimetilnona-3,7-dienil]-2,3-dihidro-7-hidroxi-2,3-dimetil-4H-furo[2,3-b][1]benzopiran-4-ona (2), rel-(2R,3R)-2-[(3E)-4,8-dimetilnona-3,7-dienil]-2,3-dihidro-7-hidroxi-2,3-dimetil-4H-furo[3,2-c][1]benzopiran-4-ona (3), rel-(2R,3R)-2-[(3E)-4,8-dimetilnona-3,7-dienil]-2,3-dihidro-7-metoxi-2,3-dimetil-4H-furo[3,2-c][1]benzopiran-4-ona (4), (4E,8E)-1-(2-hidroxi-4-metoxifenil)-5,9,13-trimetiltetradeca-4,8,12-trien-1-ona (5), el rel-(2R,3S) diastereoisomero 6 de 2, el rel-(2R,3S) diastereoisomero 7 de 4, y (4E,8E)-1-(2,4-dihidroxifenil)-5,9,13-trimetiltetradeca-4,8,12-trien-1-ona (8) (Iqbal Choudhary *et al.*, 2002).

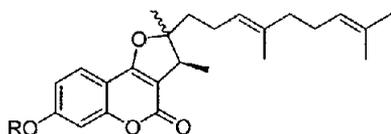


1



2: 11 α -CH₃

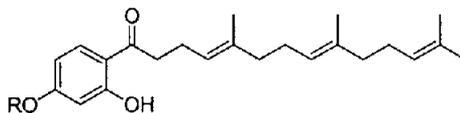
6: 11 β -CH₃



3: 11 α -CH₃, R=H

4: 11 α -CH₃, R=CH₃

7: 11 β -CH₃, R=CH₃

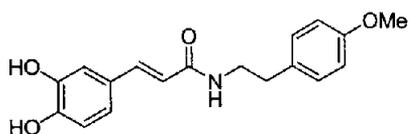


5: R=CH₃

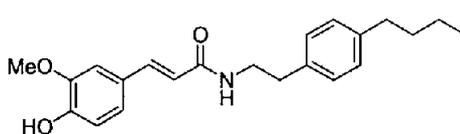
8: R=H

Fenoles

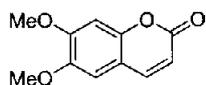
De *Cuscuta reflexa*, se han aislado los siguientes compuestos fenólicos; 7'-(3',4'-dihidroxifenil)-N-[(4 metoxifenil) etil]propenamida (1), 7'-(4'-hidroxi-3'-metoxifenil)-N-[(4-butilfenil)etil]propenamida (2), 6,7-dimetoxi-2H-1-benzopirano-2-ona (3), 3-(4-O- β -D-glucopiranosida-3,5-dimetoxifenil)-2-propen-1-ol,2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-3,5-dihidroxi-7-O- β -D-glucopirano side-4H-1 benzopirano-4-one (4) (Anis *et.al.*, 2002).



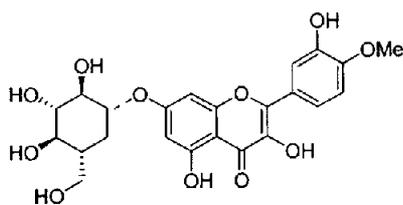
1



2

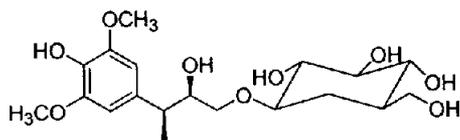


3

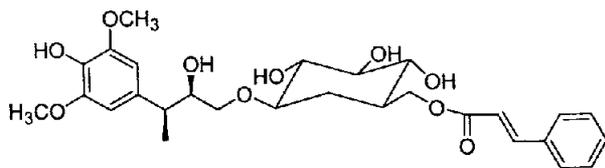


4

De la fracción acuosa del extracto metanólico de las hojas de *Hyssopus officinalis* se aislaron dos compuestos con actividad inhibitoria sobre las alfa-glucosidasas; (7*S*,8*S*)-syringoylglycerol 9- β -D-glucopyranoside (1), y (7*S*,8*S*)-syringoylglycerol-9-O-(6'-O-cinnamoyl)- β -D-glucopyranoside (2) (Matsuura *et. al.*, 2004).



1



2