



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE *Mosannonna depressa* (BAILL) CHATROU EN RATAS CON DIABETES TIPO II INDUCIDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

P R E S E N T A

EDDY CUAUHTÉMOC MARTÍNEZ ZURITA

DIRECTOR DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

MÉXICO, D.F.

MARZO, 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RECONOCIMIENTO

- A CONACyT por la beca recibida para la realización de los estudios de maestría.
- A DGEP por el complemento de beca recibida para la realización de los estudios de maestría.
- A PAPIIT (IN204703-3 e IN202607-3) por haber financiado parcialmente este trabajo de investigación.
- A DGEP a través de su programa “Movilidad Internacional de Estudiantes” por la beca complementaria recibida para realizar la estancia de investigación de tres meses en la Universidad de Bonn, Alemania.

Muy especial a los miembros de mi Comité Tutorial:

Dr. Adolfo Andrade Cetto.

Dra. María Cristina Revilla Monsalve.

Dr. René de Jesús Cárdenas Vásquez.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Al Dr, Adolfo Andrade Cetto (Doc) por su paciencia, disposición, ingenio y sobre todo, su amistad.

A mis sinodales:

Dra. María Cristina Pérez-Amador Barrón.

Dra. María Cristina Revilla Monsalve.

Dr. Robert Arthur Bye Boettler.

Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez.

...por sus oportunas sugerencias para con el presente trabajo.

Al Dr. Helmut Wiedenfeld, por su gran asesoría en la realización de la parte Fitoquímica de este estudio

Al Jardín Botánico de la UNAM, en especial al Dr. Robert Arthur Bye Boettler por facilitarnos el molino para el procesamiento del material empleado en esta tesis.

A los miembros del Bioterio de la Fac. de Ciencias:

M.V.Z. Mario J. Soriano Bautista

Biol. Dora Maria Salazar Castelo

Biol. María Isabel Antunez de la Rosa

M. en C. Agustín Carmona Castro

...por su apoyo en el manejo de los animales.

DEDICATORIA

A mi familia:

“No es la carne ni la sangre, sino el corazón lo que nos hace padres e hijos”

Johan Schiller.

...los amo.

A mis amigos:

“Un amigo es alguien que conoce esa canción en tu corazón, y te la puede cantar cuando has olvidado la letra”

Donna Roberts.

...los quiero.

A Ti zZz

...We're just two lost souls swimming in a fish bowl year after year, running over the same old ground, what have we found? The same old fears, Wish you were here...

...mi estrella en el camino, Te Amo.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT	2
RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	4
1.1 DIABETES.....	4
1.2 DIABETES EN EL MARCO MUNDIAL.....	7
1.3 FÁRMACOS UTILIZADOS ACTUALMENTE PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2.....	8
1.4 PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES.....	10
1.5 <i>Mosannonna depressa</i> (Baill.) Chatrou, 1998.....	12
1.6 ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS.....	16
1.7 ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS.....	16
1.8 ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS.....	17
1.9 MODELO DE RATAS DIABÉTICAS n-STZ.....	19
1.9.1 GLUCOSILACIÓN DE PROTEÍNAS.....	21
1.9.2 HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (HbA1c) COMO PARÁMETRO PARA EL CONTROL CRÓNICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	22
1.9.3 PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO DE <i>M. depressa</i> COMO HIPOGLUCEMIANTE ORAL.....	23
2. OBJETIVOS	25
2.1 GENERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	25
3. METODOLOGÍA	26
3.1 ETNOBOTÁNICA.....	26
3.1.1 DETECCIÓN DE CASOS.....	26
3.1.2 ENTREVISTAS.....	26
3.1.3 CUESTIONARIO.....	27
3.1.4 DISEASE-CONSENSUS INDEX (DCI).....	28
3.2 FITOQUÍMICA.....	29
3.2.1 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS Y AISLAMIENTO DE COMPUESTOS.....	29
3.3 FARMACOLOGÍA.....	30
3.3.1 ANIMALES EXPERIMENTALES.....	30
3.3.2 INDUCCIÓN DE DIABETES EXPERIMENTAL.....	30
3.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	31
3.3.4 ANÁLISIS DE MUESTRAS.....	32
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35
4. RESULTADOS	
4.1 ETNOBOTÁNICA.....	36
4.2 FITOQUÍMICA.....	38
4.3 FARMACOLOGÍA.....	39
4.3.1 GLUCOSA SANGUÍNEA.....	39
4.3.2 HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (HbA1c).....	41
4.3.3 TRIGLICERIDOS.....	43
5. DISCUSIÓN	45
6. CONCLUSIONES	49
REFERENCIAS	50

Abstract

Nowadays, diabetes is considered to be an epidemic. WHO's last estimation on diabetic people around the world was 171 million in 2000. It is feasible to increase to 366 million in 2030, what makes prevention and treatment of the disease a priority all over the world. Long time health prejudices caused by chronic exposure to hyperglycemia are reflected in micro and macro vascular problems which, in time, affect the quality of life as well as life expectancy of people suffering from this illness.

This study evaluated the hypoglycemic effect consequence of *Mosannonna depressa* (Baill.) Chatrou (Folk name "Elemuy") extract chronic administration, a very well known and appreciated plant by the Mayan communities of the southern region of Mexico for the type 2 diabetes treatment, according to the Disease Consensus Index (DCI) applied in Chikindzonot, Yucatan. The experiment was carried out in n-STZ diabetic rats. It was observed that 20mg/Kg of *M. depressa* root extract on a daily oral administration basis has a significant effect ($p < 0.05$) in the reduction of blood glucose levels and HbA1c from 30 days further on, in comparison with the control drug Bieuglucon (Metformin 500mg/Kg, Glibenclamide 5mg/Kg) which administration had no significant effect but until 45 days further on.

The compound 3-(3-hydroxy-2,4,5-trimeoxyphenyl) propane-1,2 diol was isolated and chemically determined, which is one out of the four compounds occurring in *M depressa* root butanolic extract

Resumen

Actualmente, la diabetes es considerada una epidemia. La última estimación de la OMS para el número de personas con diabetes alrededor del mundo en 2000 era de 171 millones. Es probable que se incremente al menos a 366 millones para el 2030. Lo que hace 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 ésta enfermedad.

El presente trabajo evaluó el efecto hipoglucemiante de la administración crónica de *Mosannonna depressa* (Baill.) Chatrou (nombre común: “Elemuy”); una planta muy apreciada por las comunidades mayas del sureste de México para el control de la diabetes tipo 2, según lo indicó el *Disease Consensus Index* (DCI) aplicado en la comunidad maya de Chikinzonot, Yucatán. El estudio se realizó en el modelo de ratas con diabetes inducida por streptozotocina (n-STZ). Se observó que la administración oral diaria de 20mg/Kg de extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* tiene un efecto significativo ($p < 0.05$) en la reducción de los niveles de glucosa plasmática y HbA_{1c} desde los 30 y hasta los 45 días de su administración, a diferencia del medicamento control Bieuglucón (Metformina 500mg/Kg y Glibenclamida 5mg/Kg) el cual no tuvo un efecto hipoglucemiante significativo sino hasta los 45 días de administración.

Se aisló y determinó la estructura química de 3-(3-hydroxy-2,4,5-trimeoxifenil) propano-1,2 diol, uno de los cuatro compuestos presentes en el extracto BuOH de la raíz de *M. depressa*.

1. Introducción

1.1 Diabetes

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, 2006).

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 auto inmune de las células del páncreas, con la consiguiente deficiencia de insulina, hasta condiciones de resistencia a la insulina. La acción deficiente de la insulina en los tejidos blanco 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 anormalidades 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 o incluso ceguera; 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, genitourinarios y 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 1, 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 2, 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 hiperglucemia y puede no presentar síntomas clínicos, pero es suficiente para ocasionar cambios patológicos y funcionales sobre los órganos blanco (A.D.A., 2002).

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

1. **Tipo 1:** Se debe a una destrucción completa de las células β , con ausencia total de insulina. Sin embargo, en raras ocasiones, una diabetes mellitus mucho más leve puede deberse a anomalías genéticas determinadas de la síntesis y secreción de insulina. Estas anomalías pueden consistir en mutaciones de los genes de la glucocinasa, del factor 1 promotor de la insulina y de la insulina.
2. **Tipo 2:** Es la forma más frecuente de esta enfermedad. Un factor importante en este tipo de diabetes es el trastorno leve precoz del patrón de secreción de la insulina. Se caracteriza por cambios de la secreción cíclica, disminución de la frecuencia de los pulsos y retraso de la respuesta ante la elevación de la cantidad

de glucosa. Finalmente, deja de reconocerse su capacidad de estimulación. La causa primaria del trastorno de la célula β aún no se conoce.

3. **Diabetes gestacional:** La resistencia insulínica de la gestación, si se superpone a una vulnerabilidad subyacente a la diabetes, produce diabetes gestacional en el 4% de los embarazos. La hiperglucemia aparece alrededor de las semanas 24 a 28 de la gestación y puede tener graves consecuencias para el feto. La hiperglucemia materna llega al feto y estimula una hiperinsulinemia fetal; esta hace que el feto engorde demasiado, con lo que el parto se hace más difícil y el recién nacido muestra tendencia a la hipoglucemia. Puede existir dificultad respiratoria debido a la inmadurez pulmonar, por falta de tensioactivo, y es posible la muerte súbita intrauterina por anomalías del músculo cardiaco, incluso cerca del término de la gestación.

4. **Pre-diabetes:** Esta engloba básicamente dos condiciones: Tolerancia anormal a la glucosa (impaired glucose tolerance –IGT-) y glucosa anormal en ayuno (impaired fasting glucose -IFG-). La prediabetes es una condición en la que los niveles de glucosa de una persona son mas altos de lo normal, pero no lo suficientemente altos para diagnosticarse como diabetes. La diferencia entre IGT e IFG 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 se consideraron con 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 (Berne y Levy, 2002).

Estudios han demostrado que si se toman medidas adecuadas en el control de la glucosa sanguínea cuando el paciente se encuentra en estado de pre-diabetes, se puede retrasar o incluso evitar el establecimiento de la diabetes tipo 2.

1.2 Diabetes en el Marco Mundial

Actualmente, la diabetes es considerada una epidemia. Aproximadamente 30 millones de personas en el mundo presentaron la enfermedad en 1985. Una década más tarde, el impacto global de la diabetes se estimó en 135 millones. La última estimación de la OMS para el número de personas con diabetes alrededor del mundo en 2000 fué de 171 millones. Es probable que se incremente al menos a 366 millones para el 2030. Dos grandes preocupaciones son, que mucho de este incremento en diabetes ocurrirá en países desarrollados, debido a la creciente población, envejecimiento, dietas no saludables, obesidad y estilos de vida sedentarios, y además a que hay una incidencia creciente de diabetes tipo 2 a edad temprana, la cual involucra alrededor del 90% de todos los casos. En los países desarrollados, la mayoría de las personas con diabetes se encuentran por arriba de la edad de jubilación, 70 años. En países en desarrollo, los más afectados se encuentran a la mitad de los años productivos de su vida, entre 35 y 64 años.

El número de muertes atribuidas anualmente a la diabetes es alrededor de 3.2 millones. La diabetes se ha vuelto una de las causas de muerte y enfermedad prematura en la mayoría de los países, principalmente a través del incremento de riesgo de enfermedad cardiovascular (WHO, 2006).

En México la Secretaria de Salud informó que la diabetes mellitus es la primera causa de mortalidad en el país (S.S.A., 2006), con una tasa de mortalidad general de 1/59. En el año 2004 se registraron 62 201 defunciones por esta causa. Así también, la diabetes es la primera causa de muerte en edad productiva (de 15 a 64 años) con una tasa de 1/36.6.

Según el IMSS (2006) más de un millón de mexicanos, de los 6.5 millones de diabéticos que se estima hay en el país, desconocen que padecen esta enfermedad, lo que representa un grave riesgo por las complicaciones de salud que representan y muchos descubren que la padecen sólo cuando son internados en un hospital.

1.3 Fármacos utilizados actualmente para el tratamiento de la diabetes tipo 2

Es claro que el control agresivo de la hiperglucemia en pacientes con diabetes tipo 2 puede atenuar el desarrollo de complicaciones crónicas como la retinopatía y neuropatía. Actualmente, la terapia para controlar la diabetes tipo 2 incurre principalmente en muchos fármacos cuya función es reducir la hiperglucemia misma.

Algunos ejemplos son: las sulfonilureas (y secretagogos de insulina relacionados), las cuales incrementan la liberación de insulina de las células pancreáticas; la metformina, la cual actúa reduciendo la producción hepática de glucosa; las tiazolidinedionas las cuales funcionan como agonistas del receptor proliferador-activador γ del peroxisoma (PPAR γ), las cuales promueven la acción de la insulina; los inhibidores de las α -glucosidasas, los cuales interfieren en la absorción de glucosa intestinal; la insulina misma, la cual suprime la producción de glucosa e incrementa su metabolismo (Tabla 1 (Moller, 2001).

El Estudio Prospectivo de Diabetes del Reino Unido (UKPDS), ha demostrado que la monoterapia, ya sea con glibenclamida o metformina, frecuentemente falla en mantener el control glucémico en el tiempo, y muchos pacientes tienen que cambiar a tratamientos con combinaciones de ambos, como el Bieuglucón o Glucovance (Glibenclamida y Metformina, Bristol-Myers, 2004), los cuales son más efectivos en el control crónico del paciente e incluso permite la reducción de la dosis de los fármacos involucrados (Tosi, et al., 2003).

Estas terapias tienen eficacia y tolerabilidad limitada y efectos secundarios significativos como consecuencia de su mecanismo de acción. Una preocupación particular, es la tendencia de la mayoría de los tratamientos para inducir aumento de peso en el paciente. Muchas aproximaciones actuales también están asociadas con episodios de hipoglucemia, y pocas de las terapias disponibles atacan problemas subyacentes como obesidad e insulino-resistencia. Un problema particular para las sulfonilureas es que muchos

pacientes que responden inicialmente al tratamiento, se vuelven refractores en el tiempo ((Tosi, et al., 2003).

Por lo tanto, se necesitan nuevos tratamientos. Se ha puesto particular interés en encontrar y usar mecanismos que son dependientes de respuestas fisiológicas (por ejemplo, secretagogos de insulina mediados por glucosa), y que resulten en pérdida de peso (o falta de aumento de peso, Moller, 2001).

Tabla 1. Agentes terapéuticos actuales para la diabetes tipo 2.			
<i>Medicamento</i>	<i>Blanco molecular</i>	<i>Sitio(s) de acción</i>	<i>Eventos</i>
Insulina	Receptor de insulina	Hígado, músculo, grasa	Hipoglucemia, a
Sulfonilureas (ej. Glibenclamida, Nateglinida y repaglinida)	Receptor SU/ Canal K ⁺ ATP	Célula β pancreática	Hipoglucemia, a
Biguanidas (ej. Metformina)	Desconocido	Hígado (músculo)	Problemas gast
I. de las α-glucosidasas (ej. Acarbosa)	α-glucosidasa	Intestino	Problemas gast
Thiazolidinedionas (ej. Pioglitazona, Rosiglitazona)	PPARγ	Grasa, músculo, hígado	Aumento de pes

Es importante recordar que la Metformina (biguanida) es un derivado de un producto natural activo, galegina o guanidina, aislado de la planta *Galega officinalis* L., la cual se utilizó en la edad media para detener las intensas micciones en las personas diabéticas (Witters, 2001).

Desde una perspectiva etnofarmacológica, es importante entender que la diabetes es una enfermedad que se encuentra en una interfase de tratamiento médico convencional y medicina tradicional, en todo el mundo (Holmstedt et al, 1983 y Schultes, 1991).

1.4 Plantas Hipoglucemiantes

Dentro de la medicina tradicional mundial se mencionan cerca de 800 plantas con acción hipoglucemiante.

Para México, se han documentado al menos 306 especies de 235 géneros y 93 familias. Las familias más comúnmente reportadas son: Asteraceae (47sp.), Fabaceae, (27), Cactaceae (16), Solanaceae, Euphorbiaceae (10) y Lamniaceae (9). Se cree que la cifra puede duplicarse, debido a todas las especies que no han sido documentadas (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

El impacto económico de usar medicina tradicional es sumamente importante para muchas familias de bajos recursos. La producción de tes medicinales o preparaciones simples, con el control de calidad adecuado, que pudiesen ser vendidos en mercados, promovería el ahorro familiar, no dejando a un lado el consumo de productos de alta calidad con repercusiones positivas en la salud de los pacientes.

Estas iniciativas deberían ser acompañadas por programas de entrenamiento y educación, dirigidos a pacientes diabéticos, médicos y trabajadores sociales, para asegurarse que los pacientes tomen esas preparaciones de manera adecuada.

En países como Alemania, Francia e Inglaterra el uso de fitomedicamentos es elevado, en comparación con México, un país con gran historia en el uso de la medicina tradicional, donde el control de calidad de los productos terapéuticos apenas comienza a desarrollarse

Los fitomedicamentos se obtienen al someter las plantas crudas a procesos como extracción, destilación, fraccionamiento, purificación, concentración y/o fermentación (Gaedckey y Steinhoff, 2003). Claramente, se requiere amplia investigación para desarrollar tales productos, los cuales podrían ser de enorme beneficio para la población mexicana que sufre de un drástico incremento en diabetes mellitus.

Actualmente se ven algunos esfuerzos en México por producir preparaciones de plantas mediante procesos más complejos. Un ejemplo es el mercado municipal de Mérida, Yucatán donde se pueden encontrar curanderos y personas dedicadas al comercio de plantas medicinales vendiendo preparaciones alcohólicas de *Mosannonna depressa* (Baill.) Chatrou (antes *Malmea depressa* (Baill.) R E. Fries), (Andrade-Cetto, obs. Per), planta reportada para el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Andrade-Cetto *et al.*2005).

1.5 *Mosannonna depressa* (Baill.) Chatrou, 1998.



Fig.1 Hojas, Flores y Frutos de *Mosannona depressa* (Baill.) Chatrou, 1998.

Familia: Annonaceae

Sinonimia: *Annona depressa* (Baill.) Saff. 1922, *Malmea depressa* (Baill.) R. E. Fries, (MOBOT, 2006).

Taxonomía actual: El género *Mosannona* comprende 14 especies que son excluidas del género *Malmea* (Chatrou, 1998), que se diferencian de los otros géneros de Annonaceae por la combinación de una vena primaria expuesta sobre la cara abaxial de la hoja, inflorescencias terminales, y pétalos que surgen en un estadio muy temprano del desarrollo de la flor dejando el centro floral descubierto (Chatrou, 1998 y Chatrou *et al.*, 2004).

Las áreas de distribución de las especies de *Mosannona* son pequeñas, con poco solapamiento entre áreas, el patrón de distribución es muy parecido a la especie de *Crematosperma* y *Cymbopetalum* (Murria, 1993). La mayoría de las especies de *Mosannona* se encuentran al norte de los bosques Amazónicos de Ecuador y Perú, muchas especies están presentes en Mesoamérica, distribuidas hasta el norte de los estados mexicanos de Veracruz y Nayarit (Chatrou, 1997), y *M. discolor* ha sido colectada en dos áreas separadas en Guyana y Surinam.

Importantes diferencias morfológicas y anatómicas con otros géneros de Annonaceae llevaron a la descripción de *Mosannona*. Al momento de describir el género, la monofilia del género no había sido establecida. Sin embargo, una hipótesis bien sustentada de monofilia es un prerrequisito necesario para nombrar a un grupo. El principio de la monofilia es también el pilar más importante de los recientes cambios en la clasificación de angiospermas (APG, 1998 y APG II, 2003). En la investigación sistemática de Annonaceae, la filogenética juega un papel importante, y la clasificación es adaptada si es necesario (Su *et al.*, 2005). En el trabajo de Pirie *et al.* (2006) el género *Mosannona* recibe apoyo significativo como grupo hermano a un grupo más grande que contiene generos Neotropicales incluyendo *Oxandra* y *Ephedranthus*, esto sobre la base de comparación en las secuencias rbcL y tmL-F (nucleares y de cloroplasto) y recientemente

se describieron géneros que originalmente representaban especies de *Malmea*: *Klarobelia* y *Pseudomalmea*. El muestreo de taxa (Pirie et al., 2006) incluyó 7 especies de *Mosannonna*. Recientemente, Sharrott (2006) confirmó la monofilia de *Mosannonna* y encontró máximo apoyo estadístico en un estudio con muestras de especies casi completas, basándose en secuencias de cloroplasto y DNA nuclear.

Nombres comunes: Elemuy, Sufricaya y Nazareno Prieto.

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, las mayoría de 7 a 12 cm de largo y de 2 a 5 cm de ancho en etapas más avanzadas de desarrollo, aguda a atenuada-acuminada, usualmente aguda y desigual en la base, lustrosa por encima, un poco pilosa en sus estados jóvenes pero conforme envejece se vuelve glabra, nervaciones prominentes. Inflorescencias terminales u opuestas a las hojas, pedicelos de 1 a 2 cm de longitud, glabros o ligeramente cubiertos de tricomas. Flor: Caliz: los sépalos de redondos a ovalados, obtusos, glabros, de 2 a 3 mm de longitud; Corola: los pétalos totalmente ovalados o elípticos, glabros, verdosos, de 18 a 23 mm de longitud. Frutos: son bayas de 1.5 cm de longitud o mas pequeños, elipsoides, rojos, obtusos, glabros (Standley y Steyermark, 1946, y Argueta *et al.*, 1994).

Distribución: Habita en clima cálido entre los 2 y los 34 msnm. Asociada a vegetación perturbada derivada de bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio (Fig. 2) (Missouri Botanical Garden, 2006).

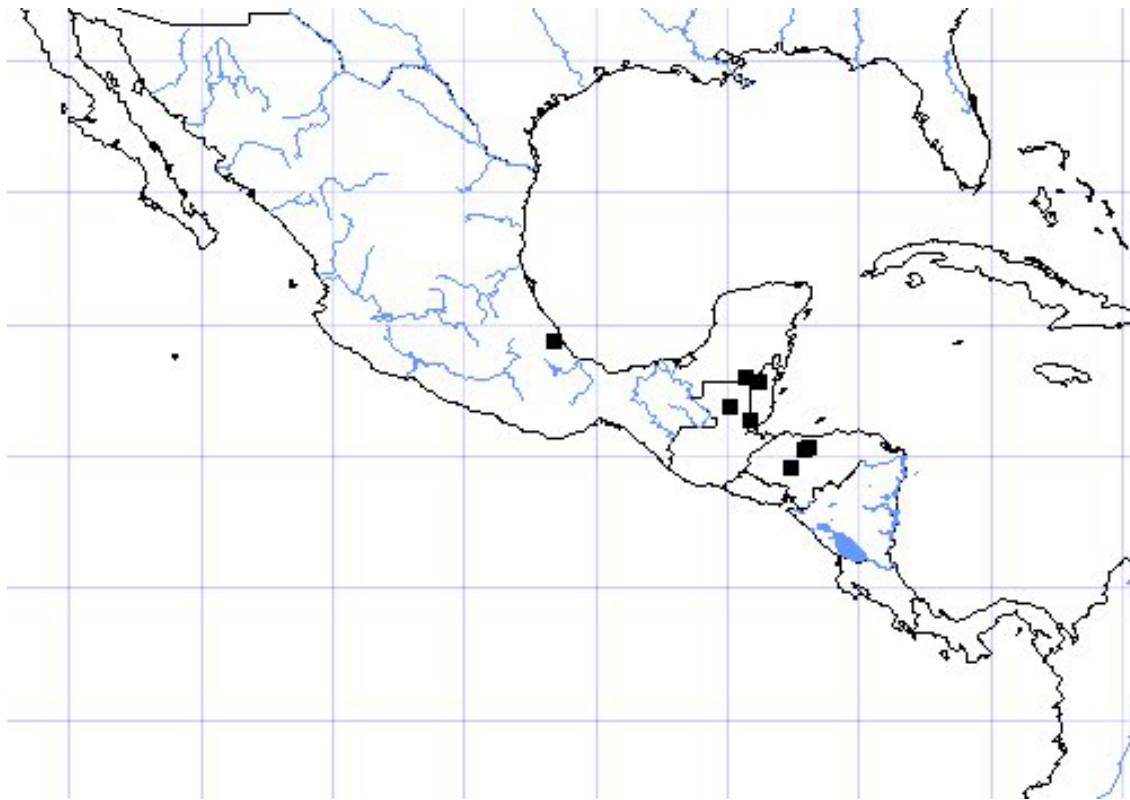


Fig 2. Mapa de distribución de *Mosannona depressa* (Baill.) Chatrou. Tomado de Missouri Botanical Garden (Trópicos). (www.mobot.com)

Sitio de Estudio: El municipio de Chikindzonot está localizado en el centro del estado de Yucatán, a 20.3-20.27 Norte y 88.43-88.2 Oeste a 33m sobre el nivel del mar. El clima corresponde a tropical con lluvias en verano y una temperatura media anual de 25.9°C. El tipo de vegetación es Selva media y alta subcaducifolia (Rzedowski, 1978). Especies como *Swietenia macrophylla* King (caoba), *Cupressus arizonica* Greene (cedro), *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (ceiba), *Ceiba parvifolia* Rose (pochote), y *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (chakah) son típicas de esta región.

El municipio incluye a las siguientes comunidades: Chikindzonot, Ekpedz y Chan-Chichimil a (CESEM, 2006). La población de Chikindzonot es de 3511 habitantes (1784 hombres y 1727 mujeres). Alrededor de 2963 habitantes son reconocidos como hablantes nativos de Maya. La actividad económica más importante en la comunidad es la agricultura (65.6%), seguido del comercio a baja escala (17.4%). Dentro del municipio se encuentran servicios de salud como un centro de salud de la SSA con equipo adecuado para atender las necesidades de salud básicas.

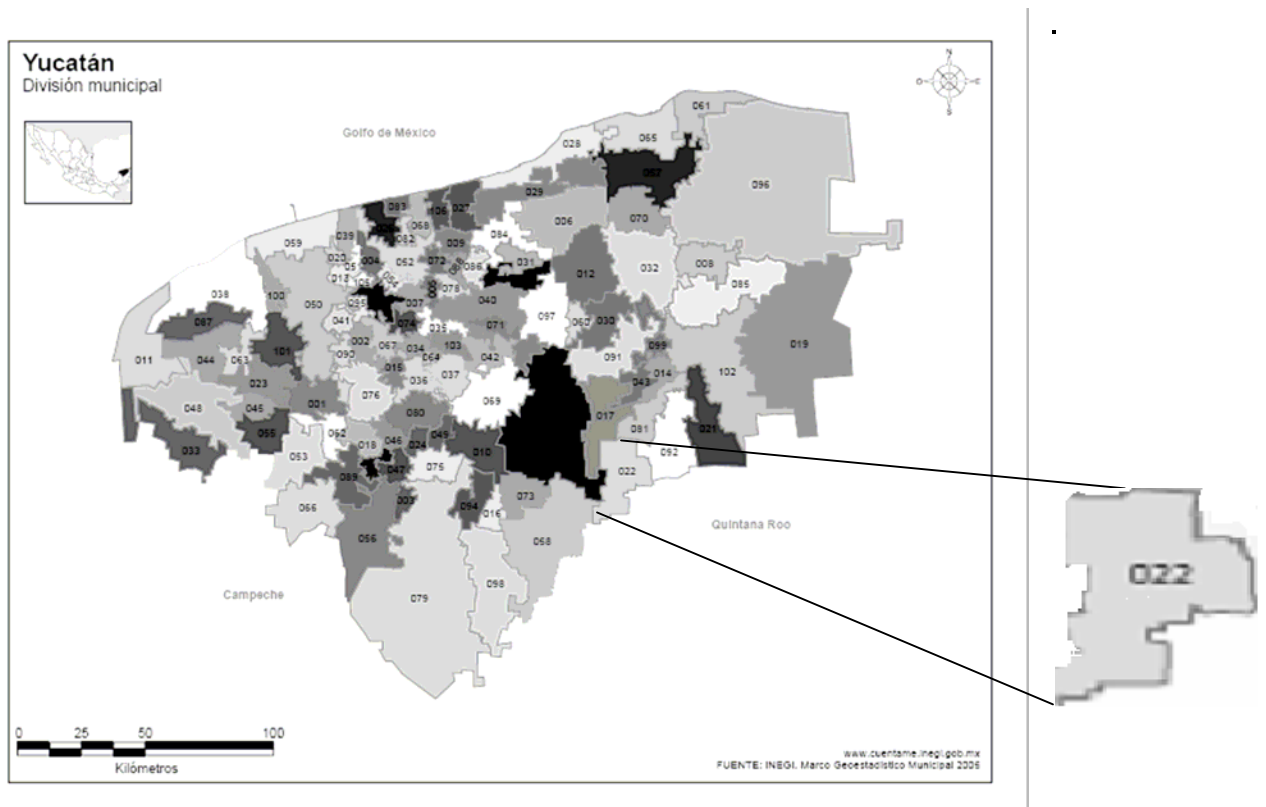


Fig. 3. Municipio de Chikindzonot, Yucatán. Tomado de INEGI. Marco Geoestadístico Municipal 2005. www.cuentame.inegi.gob.mx

1.6 Antecedentes Etnobotánicos

Los usos medicinales de esta planta se encuentran referidos en la zona sureste 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).

Estudios etnobotánicos de nuestro grupo de trabajo en la comunidad Maya de Chikindzonot, Yucatán, confirmaron que *Mosannonna depressa* es utilizada como agente hipoglucemiante para la diabetes tipo 2 y también es usada para problemas renales. El árbol es localmente denominado por su nombre maya “elemuy”. De manera general, la gente toma la infusión de 15-18g de raíz o corteza, en un litro de agua; también la misma cantidad de planta es macerada y dejada en reposo por la noche en agua a temperatura ambiente. El te ó macerado se ingiere durante el día como “agua de uso”. La raíz seca, que es la que tiene mayor número de reportes de uso y es la que más utiliza la gente de esta región, se vende en el mercado municipal de Mérida, Yucatán, con la misma forma de preparación y una dosis similar recomendada. Se encontró a la venta una preparación etanólica; esta preparación es recomendada para el tratamiento de la diabetes tipo 2, 40 gotas (aproximadamente 1.5ml) se agregan a 500ml de agua la cual se ingiere varias veces al día (Andrade-Cetto *et al.*, 2005).

1.7 Antecedentes Fitoquímicos

Estudios fitoquímicos de la corteza de la parte aérea de *M.depressa* han revelado la presencia de compuestos fenólicos (Alfa-asarona), profenilbenzenos y algunos alcaloides. Se observó que estos compuestos tenían efecto en el decremento de colesterol y triglicéridos en ratas (Argueta, 1994). También se han demostrado propiedades antisépticas de la planta (Gutiérrez-Lugo *et al.*, 1996).

Del extracto clorofórmico (CHCl_3) de la corteza de la parte aérea se han aislado los siguientes compuestos: 1,2,3,4 - tetrametoxi-5-(2-profenil) benceno, 2,3,4,5-tetrametoxicinnamaldehído, trans-isomiristicina, 2,3,4,5-tetrametoxicinnamil alcohol y 2,3,4,5-tetrametoxibenzaldehído. Este último presentó actividad inhibitoria de crecimiento en plántulas de diferentes especies (Jiménez *et. al.*, 1996).

El análisis del extracto butanólico (BuOH), de la raíz de *M. depressa* (equivalente al te medicinal) revelaron la presencia de dos compuestos categorizados de acuerdo a métodos espectroscópicos como derivados del fenil-butano (2-hidroxi-3,4,5-trimetoxi-1-(2-4-

hidroxi-3-dihidroxi) butil-benzeno 1 y 2-hidroxi-3,4,5-trimetoxi-(2-,3-,4-hidroxi) butil-benzeno 2 (Andrade-Cetto *et al.*, 2005). Existen reportes de este tipo de compuestos como agentes hipoglucemiantes (Soliman y Feid-Allah, 1981).

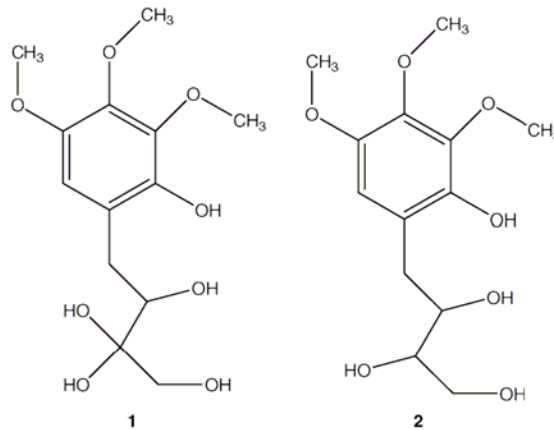


Fig. 4. Compuestos aislados del extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* (1) 2-Hidroxi-3,4,5-trimetoxi-1-(2_,4_-hidroxi-3-dihidroxi) butil-benzeno; (2) 2-hidroxi-3,4,5-trimetoxi-1-(2_,3_,4_-hydroxi) butil-benzeno.

1.8 Antecedentes farmacológicos

Se han analizado los efectos de la administración aguda de los extractos: acuoso, etanólico y butanólico de la raíz de *M. depressa* en ratas con diabetes inducida con 65mg/Kg. de streptozotocina (STZ). El extracto acuoso a una dosis de 40mg/Kg. mostró actividad hipoglucemiante significativa después de 120min de la administración.

Los extractos etanólico y butanólico provocaron un descenso significativo ($p < 0.05$), en los niveles de glucosa plasmática en comparación con los controles. El efecto fue significativo desde los 60min hasta los 180min.

Los análisis también mostraron que no hubo diferencia significativa entre las preparaciones de planta probadas y los medicamentos hipoglucémicos como glibenclamida y metformina (Andrade-Cetto *et al.*, 2005).

Becerra-Jimenez (2005), reporta la actividad del extracto BuOH de *M. depressa* como inhibidor de las α -glucosidasas intestinales; la administración de 100mg/Kg del extracto BuOH evita el incremento de los niveles de glucosa plasmática después de 60 minutos, tras la administración de 3g/Kg de maltosa.

1.9 Modelo de ratas diabéticas n-STZ

Como se mencionó anteriormente, la diabetes mellitus es trastorno que se caracteriza por hiperglucemia, metabolismo alterado de lípidos, carbohidratos y proteínas y un incremento del riesgo de complicaciones de enfermedades vasculares. La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza por anormalidades en la secreción de insulina y la incapacidad de los tejidos periféricos para responder a la insulina (A.D.A., 2004).

A pesar de la disponibilidad de muchos modelos animales para el estudio de la diabetes mellitus tipo 2, incluyendo modelos genéticos e inducidos químicamente, ninguno de ellos reproduce exactamente la diabetes tipo 2 humana.

El modelo de ratas neonatas inducidas con streptozotocina (n-STZ), es un modelo relativamente novedoso y que presenta ventajas potenciales sobre otros como modelo útil para el estudio de la diabetes mellitus tipo 2. El modelo n-STZ (con alteración de la dosis y el día de inyección de la STZ), presenta varios de los estadios de la diabetes mellitus tipo 2, como intolerancia a la glucosa e hiperglucemia baja, moderada y severa.

Este modelo fue descrito por vez primera después de inyectar ratas por vía intravenosa (vena safena) o intraperitoneal, en el día de su nacimiento (n0) con 100 mg/Kg. de streptozotocina (Bonner-Weir, et al. 1981).

Las ratas neonatas tratadas con STZ al nacimiento exhiben insulino-deficiencia aguda de 3-5 días después del nacimiento. Se confirmó que eran diabéticas durante este periodo al monitorear los siguientes parámetros bioquímicos: glucosa plasmática elevada (345 ± 37 mg/dl), las reservas de insulina pancreática muestran un descenso del 93%, la insulina plasmática es baja considerando los altos niveles de glucosa, el glucagon plasmático es alto a pesar de que el glucagon pancreático es estable. Todas las crías sobrevivientes pueden mantenerse fácilmente hasta la etapa adulta. La hiperglucemia severa observada en los neonatos después de la administración de STZ es pasajera. Al término de la primera semana postnatal, los valores de glucosa e insulina plasmática no difieren significativamente de los controles. Sin embargo, a las 8 semanas de edad y de ahí en adelante, las ratas n-STZ muestran hiperglucemia moderada (150-180 mg/dl), además de respuestas anormales en pruebas de tolerancia a la glucosa y un 50% de descenso en las reservas de insulina pancreática sin cambio en las reservas de glucagon (Portha et al., 2001).

Las células β en las ratas n-STZ comparten semejanzas con las características secretoras de insulina encontradas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, como pérdida de la

secreción de esta hormona mediada por la concentración de glucosa y reducción de la cantidad del transportador de glucosa GLUT2. Por lo tanto, el modelo n-STZ puede considerarse como uno de los modelos animales útiles para la diabetes mellitus tipo 2 (Arulmozhi, et al., 2004).

La selección de modelos animales para estudiar nuevos medicamentos hipoglucemiantes depende del tipo de características particulares de diabetes tipo 2 requeridas. En el modelo de ratas n-STZ, las lesiones que contribuyen a la hiperglucemia representan muchos blancos potenciales a los cuales nuevos agentes hipoglucemiantes pudiesen ser dirigidos.

1.9.1 Glucosilación de proteínas

La glucosilación no-enzimática de proteínas, o reacción de Maillard, es un proceso que relaciona hiperglucemia crónica a una serie de alteraciones fisiopatológicas consideradas importantes en el desarrollo de complicaciones crónicas de la diabetes. La reacción de Maillard se subdivide en tres estadios principales: temprano, intermedio y tardío. En el estadio temprano, la glucosa (u otros azúcares reducidos como fructuosa, pentosas, galactosa, manosa, ascorbato, xilulosa) reaccionan con un grupo amino de muchas

moléculas, incluyendo proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, para formar un compuesto inestable, la base de Schiff. A través de reconfiguraciones, esta base da lugar a una cetoamina estable, el producto Amadori. Puesto que esta reacción no requiere la participación de enzimas, las variables que la regulan *in vivo* son las concentraciones de glucosa y proteína, la vida media de la proteína, su reactividad en términos de grupos amino libres, y la permeabilidad celular a glucosa. En condiciones *in vivo*, el producto Amadori alcanza el equilibrio después de aproximadamente 15-20 días y, a través de uniones irreversibles, se acumula tanto en proteínas de vida corta como de vida larga.

En el estadio intermedio, a través de reacciones de oxidación y deshidratación, el producto Amadori se degrada a una variedad de compuestos carbonilo (glyoxal, methylglyoxal, deoxyglucosonas) los cuales, siendo mucho más reactivos que los azúcares de los cuales derivan, actúan como propagadores de la reacción, nuevamente con los grupos amino de las proteínas. En particular, el methyl glyoxal es un alfa-oxaldehído muy reactivo que puede formarse tanto de reacciones que dependen de los niveles de glucosa (glicosilación no-enzimática, ruta del polirol) y de productos intermedios de la glucólisis, metabolismo de cuerpos cetónicos, y catabolismo de treonina. La alta reactividad y las concentraciones elevadas de methyl glyoxal en plasma, indican que este compuesto es uno de los más importantes *in vivo*.

En el estado tardío, estos propagadores nuevamente reaccionan con grupos amino y, a través de reacciones de oxidación, deshidratación y ciclización, forman compuestos irreversibles, frecuentemente fluorescentes, insolubles, usualmente llamados Productos finales de Glucosilación Avanzada (de sus siglas en inglés, AGEs), los cuales se acumulan en proteínas de vida larga y causan daño (Lapolla, et al., 2005).

1.9.2 Hemoglobina Glucosilada (HbA1c) como parámetro para el control crónico de la diabetes mellitus tipo 2

La medición de productos tempranos de glucosilación (producto de Amadori) es comúnmente utilizada para evaluar control glucémico en pacientes diabéticos. Los dos parámetros comúnmente utilizados son HbA1c y proteínas de suero glucosiladas.

En adultos, el 97% de la hemoglobina (Hb) está formada de HbA. En 1958, por medio de cromatografía de intercambio iónico, Allen y colaboradores, revelaron tres componentes menores de HbA, llamados HbA_{1a}, HbA_{1b}, y HbA_{1c}, siguiendo la secuencia de elusión.

En 1968, Rahbar notó que las fracciones mas pequeñas, principalmente HbA_{1c}, se encontraban elevadas en los pacientes diabéticos. Estudios subsecuentes han mostrado que la HbA_{1c} es derivada de la reacción no-enzimática entre la glucosa y los grupos amino de valina y lisina de la β-globina. En 1978, el término hemoglobina glucosilada se introdujo para indicar la reacción no-enzimática.

Puesto que la formación de HbA_{1c} ocurre sobre el tiempo de vida media de los eritrocitos (alrededor de 120 días) y la cantidad de HbA_{1c} depende del tiempo promedio de la concentración de glucosa, la medición del producto de la glucosilación temprana de la hemoglobina (HbA_{1c}) refleja el grado de exposición a la glucosa de 4-8 semanas antes de la prueba. Esto también ha sido demostrado en estudios clínicos, en los cuales los valores de HbA_{1c} han revelado correlaciones lineales con los niveles de glucosa en las 4-8 semanas pasadas. Después del mismo periodo de tiempo, los niveles glucémicos incrementados en los pacientes diabéticos con un control metabólico pobre, se reflejan en un aumento definitivo en los niveles de HbA_{1c}.

En humanos, los niveles de HbA_{1c} de individuos sanos oscilan alrededor del 5% del total de la hemoglobina. Los pacientes diabéticos no controlados tienen un porcentaje por arriba del 7% (A.D.A., 2006). En ratas con diabetes inducida químicamente con STZ, los niveles de HbA_{1c} son similares a los de humanos (Bidasee, *et al.*, 2001, Tabuchi *et al.*, 2003 y Degirmenci *et al.*, 2005).

La medición de HbA_{1c} es por lo tanto un parámetro muy importante para la evaluación del control glucémico a largo plazo en los pacientes diabéticos, pero sólo si su medición es confiable y estandarizada. En este contexto, debería aplicarse a todos los pacientes diabéticos, tanto al comienzo de la enfermedad, para evaluar el grado de control

glicémico y, subsecuentemente como parte del cuidado continuo, para estimar la efectividad del tratamiento (Rolandson et. al. 2004 y Lapolla, et al., 2005).

1.9.3 Perspectivas del estudio de *M. depressa* como hipoglucemiante oral

Estudios etnofarmacológicos han confirmado que *Mosannonna depressa* muestra clara actividad hipoglucemiante, lo cual coincide perfectamente con su uso tradicional en el estado de Yucatán como una infusión de la raíz para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Los extractos (acuoso, etanólico, butanólico) de la raíz de *M. depressa* producen un efecto hipoglucemiante agudo en ratas adultas inyectadas con STZ (Andrade-Cetto et al., 2005).

Como se pudo determinar, los extractos probados, acuoso, butanólico y etanólico, presentan los mismos compuestos, siendo el extracto butanólico el que presenta mayor concentración de los mismos. Se ha asumido que estos compuestos están relacionados con la actividad farmacológica.

De acuerdo a Bonnier-Weir *et al.*, 1981, el modelo de animales mas adecuado para determinar el efecto hipoglucemiante en estudios crónicos es el n-STZ.

Es necesario analizar el efecto de la administración crónica del extracto butanólico de la raíz de *M. depressa*, de una manera similar a como es utilizado en las comunidades mayas de Yucatán. Para ello, es necesario recurrir al modelo animal n-STZ, descrito anteriormente, el cual nos permite estudiar el efecto que pudiese tener el extracto en cuestión sobre animales que pueden permanecer en estado experimental por periodos de tiempo prolongados.

Además, también se deben hacer más estudios para determinar los mecanismos de acción de los extractos así como el aislamiento de los demás compuestos presentes en la raíz de *Mosannonna depressa*.

Hipótesis

- La administración crónica del extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* tendrá efecto significativo sobre la reducción de los niveles de glucosa plasmática y hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}) en ratas diabéticas n-STZ.

2 Objetivos

2.1 General

- Demostrar el efecto hipoglucemiante de la administración crónica de *Mosannonna depressa* (Baill.) Chatrou, en ratas con diabetes tipo 2 inducida con estreptozotocina.

2.2 Objetivos particulares

- Aplicar el índice DCI (Disease Consensus Index) para determinar el uso de la raíz de *M.depressa* en el tratamiento de la diabetes tipo 2 en la comunidad maya de Chikindzonot, Yucatán.
- Adecuar el modelo farmacológico de diabetes tipo 2 n-STZ en ratas Sprague Dawley a las condiciones experimentales del laboratorio.
- Demostrar el efecto hipoglucemiante que sobre las ratas con diabetes tipo 2 inducida tenga el tratamiento crónico con el extracto BuOH de la raíz de *M. depressa*.
- Aislar los compuestos presentes en el extracto butanólico de la raíz de *M.depressa* que no han sido aislados.

3 Metodología

3.1 Etnobotánica

3.1.1 Detección de casos

Se contactó a las autoridades locales del municipio de Chikindzonot, Yucatán y se procesaron los permisos pertinentes para la realización de la investigación. Los pacientes diabéticos fueron detectados por medio del Centro de Salud local; se

registraron en una lista inicial datos como nombre, edad, dirección, última medición de glucosa y tratamiento. Además, puesto que no todos los diabéticos asisten a los servicios médicos, se preguntó a la gente de la lista inicial si tenían familiares o conocían a otras personas que padecieran la enfermedad. Haciendo uso de este método, cubriéndose a la mayoría de los enfermos.

Los pacientes fueron entrevistados sobre la base de cuestionarios estructurados. Las entrevistas fueron realizadas durante estancias cortas en la comunidad en los años, 2003, 2004 y 2005. Se explicó claramente el propósito del estudio a los participantes para evitar posibles mal-interpretaciones. Se les informó a las personas que su participación era voluntaria y que no tenía que ver con los servicios de salud o la promoción de algún medicamento.

El objetivo fue la determinación del uso de plantas medicinales para tratar la diabetes tipo 2. Todos los participantes estuvieron en la libertad de suspender las entrevistas en cualquier momento.

3.1.2 Entrevistas

Las entrevistas fueron conducidas por nuestro grupo de trabajo con los primeros 10 pacientes detectados; Se usó un cuestionario semi-estructurado previamente evaluado por Andrade-Cetto (1995), para obtener información sobre las plantas medicinales utilizadas para tratar la enfermedad entre los diabéticos tipo 2.

Sobre la base del trabajo de Ankli (2000), se visitó a los curanderos tradicionales usando el mismo cuestionario. Las especies medicinales mencionadas fueron colectadas *in situ* con ayuda de los curanderos locales o los pacientes. También se investigó información adicional relacionada con el conocimiento del informante sobre el sitio de crecimiento de la planta, parte utilizada, sabor y forma de preparación.

Todos los datos fueron analizados en nuestro laboratorio, el material vegetal fue identificado y determinado correctamente. Los ejemplares de herbario se encuentran

en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.M. 14702 e I.M.S.S.M. 14706). También se hicieron mini-herbarios para referencia en campo.

Se desarrolló un cuestionario basándose en la información obtenida sobre el uso de plantas medicinales; este cuestionario estructurado se aplicó a 46 pacientes con diabetes tipo 2 (lista final) y además 3 curanderos. El cuestionario contenía 25 preguntas, de las cuales únicamente 10 fueron utilizadas específicamente para la aplicación del *Disease Consensus Index* (DCI) (Andrade-Cetto *et al.* 2006) (Ver Apéndice).

3.1.3 Cuestionario

El cuestionario contiene 25 preguntas, 15 sobre la percepción personal de la enfermedad, información personal como: género, edad, dirección, nivel educativo y lengua. Estas preguntas no están directamente relacionadas con el DCI, sino que sirven para introducir y ubicar al paciente.

Las siguientes preguntas se fueron utilizadas para calcular el índice: 1) Nombre de la planta en Maya o Español, 2) Descripción general de la planta, 3) Modo de preparación, 4) Forma de administración durante el tratamiento, 5) Características organolépticas como sabor, olor, textura, 6) Síntomas principales después del consumo de la planta, 7) Frecuencia de administración, 8) Si el paciente siente mejoría después del consumo de la especie en cuestión, 9) Información general acerca de la región de colecta, 10) Si el paciente ha recomendado el uso de esa especie a otros miembros de la comunidad.

El análisis de los datos consistió en una evaluación binaria (1) o “SÍ”, que indica conocimiento ó (0) ó “NO”- falta de conocimiento. En cada caso esto se refiere para cada pregunta, permitiendo un análisis matemático de los resultados.

El máximo valor potencial para un informante (acerca de una planta, OP) es siempre 1. En este caso se evaluó sobre la base de 10 preguntas. Si todos los informantes tienen conocimiento acerca de todos los aspectos de la biología y uso de la planta medicinal, una especie puede sumar un máximo de 1.

$$OP = \frac{(\text{No de preguntas (sí)} \times \text{No. Total de preguntas})}{100} \times 0.01$$

Donde OP= Valor de una planta.

3.1.4 Disease-Consensus Index (DCI)

El Disease-Consensus Index (DCI) (Andrade-Cetto, et al., 2006) es una comparación basada en aspectos matemáticos (teoría de límites), respuestas ideales en los reportes por parte de los informantes (Cc) y respuestas ideales para cada especie (Vx).

Se calcula de la siguiente manera:

$$DCI = \left(\frac{\sum_{i=1}^{\infty} V_{xi}}{C_c} \cdot m V_x \right) P_m^{-0.1}$$

Donde (x) es cualquier especie; (Vxi) la suma de los valores individuales obtenidos para una especie dentro de la comunidad. Evalúa: Conocimiento, Menciones; (mVx) la media estadística de los valores individuales para una planta. Evalúa: Conocimiento; Cc el coeficiente de correlación, definido como el máximo número de informantes quienes refieren una planta. Evalúa: Menciones; Pm-0.1 es el factor de compensación, y analiza la dispersión para una planta, considerando el modo de preparación y partes usadas (Becerra-Jiménez, 2005 y Andrade-Cetto, et al. 2006).

3.2 Fitoquímica

3.2.1 Preparación de extractos y aislamiento de compuestos

Los extractos de planta se prepararon a partir de muestras de raíz por extracción por el método de Soxhlet, para ello se realizó el siguiente procedimiento:

Se pesaron 300g de la raíz de *M. depressa* y se colocaron en un cartucho de celulosa 90 X 200mm.

Se colocó 1l de n-hexano en el matraz de bola del sistema soxhlet, junto con algunas piedras de ebullición y se dejó extraer por alrededor de 48 horas. Una vez extraído con n-hexano, se procedió a desechar el solvente, ya que contenía sustancias lipofílicas de nulo interés para nuestro trabajo.

Se dejó secar el cartucho y se reutilizó para su posterior extracción con Metanol (MeOH) durante aproximadamente 48 hrs.

El extracto metanólico resultante se evaporó totalmente con la ayuda de un Rotavapor Buchi a presión reducida, para su posterior limpieza de acuerdo a lo descrito por Wiedenfeld, 2005.

Para la identificación fitoquímica de los principales componentes, el extracto butanólico se aplicó a una columna flash (Machery and Nagel, Düren, Alemania) de 100cm X 2cm Polygoprep 60-30 C₁₈ y se eluyó por 24 horas con una mezcla de H₂O: AcCN: MeOH en cada una de las siguientes proporciones: 85:8:7, 80:10:10, 75:13:12, 70:15:15, 60:20:20 y 50:25:25. La elución se realizó a una velocidad de 5ml/min, colectándose fracciones de 10ml por tubo de ensaye las cuales fueron monitoreadas por un detector de luz UV y se evaporaron a sequedad en un Rotavapor.

La pureza de las fracciones resultantes fue monitoreada por Cromatografía líquida de Alta Resolución (HPLC) (ET: 250/8/4 Nucleosil 120-5 C₁₈, Machery and Nagel; 0.04M H₃PO₄: AcCN:MeOH, 0-9min, 85:8:7, 20min, 70:15:15; 1.5ml/min; 220nm, detector UV.

Las fracciones que resultaron contener los compuestos mas puros, fueron evaporadas a sequedad nuevamente y se determinó la estructura química por medio de Resonancia Magnética Nuclear (NMR) gracias a la colaboración del Dr. Helmut Wiedenfeld, del Instituto de Farmacia de la Universidad de Bonn.

3.3 Farmacología

3.3.1 Animales experimentales

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley machos neonatos de 5 días de nacido (peso aproximado 10g), crías de hembras Sprague-Dawley certificadas adquiridas de Bioterios Harlan, y mantenidas en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM. Se mantuvieron bajo el cuidado de la madre hasta los 30 días de edad, después fueron destetados. Los animales permanecieron en un cuarto a 25°C con 55% de humedad, con un fotoperiodo de 12hrs. Las ratas tuvieron acceso *ad libitum* al alimento (Purina Ralston) y al agua durante todo el experimento.

3.3.2 Inducción de diabetes experimental

Las ratas neonatas fueron inyectadas al quinto día post-nacimiento vía vena caudal con 90mg/Kg. de streptozotocina (STZ), disuelta en 20 µl de Buffer de acetatos, pH 4.5.

Los animales que sobrevivieron a la inyección (33.3%) permanecieron con la madre hasta los 30 días de edad, posteriormente fueron destetados y colocados en cajas separadas; ahí permanecieron los siguientes 30 días hasta que fueron monitoreados sus niveles de glucosa plasmática a los 2 meses de edad (60 días).

Aquellos animales que presentaron valores ≥ 130 mg/dl de glucosa plasmática después de 8 hrs de ayuno fueron considerados diabéticos. Valores ≤ 129 mg/dl de glucosa plasmática no se incluyeron en el experimento.

3.3.3 Diseño Experimental

Las ratas fueron separadas en 4 grupos experimentales de 4 ratas cada uno, conforme al tratamiento que recibirían. Los tratamientos se muestran en la tabla 2.

GRUPO EXPERIMENTAL	TRATAMIENTO
1-Control (-) ND	Sol. Fisiológica (Vehículo)
2-Control (+) D	Sol. Fisiológica (Vehículo)
3-Experimental (1)	Bieuglucon M (Metformina 500mg/Kg, Glibenclamida 5mg/Kg) 2 veces al día
4-Experimental (2)	Extracto Bu-OH de la raíz de <i>M. depressa</i> 20mg/Kg/día

* Dosis del extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* calculada de acuerdo a DDnative extract (Gaedcke, y Steinhoff, 2003).

Tabla 2. Grupos experimentales y tratamientos respectivos

Preparación y administración de los tratamientos

Una vez calculada la dosis correspondiente para cada rata experimental (Tabla 2.), los extractos, se pusieron en suspensión en solución fisiológica (solución de NaCl 9%).

La administración de los tratamientos se realizó diariamente durante 45 días en dos tomas, la primera a las 9am y la segunda a las 6pm. La administración se hizo con la ayuda de una cánula gastroesofágica para asegurarnos de que el tratamiento llegara al tracto digestivo. Al inicio del experimento (T0), a los 30 días (T1) y a los 45 días (T2), a los animales de los 4 grupos se les monitorearon los siguientes parámetros: glucosa, HbA_{1c} y Triglicéridos.

3.3.4 Análisis de muestras

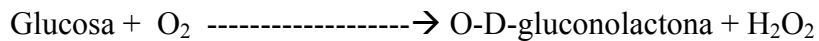
Glucosa sanguínea

Para la medición de glucosa se utilizó el equipo Reflotron de Roche. Se utilizaron las respectivas tiras reactivas para glucosa y la toma de muestra sanguínea fue obtenida de la vena caudal de la rata sometida a ayuno de 8 horas; se utilizaron 32µl de sangre por cada muestra, los cuales se colectaron en tubos capilares heparinizados.

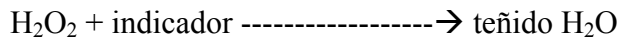
Principio de la prueba

Después de la aplicación de la sangre a la tira de prueba, la muestra fluye a la zona de reacción, en el caso de la sangre, después de la separación de los eritrocitos del plasma. La D-glucosa es oxidada a O-D-gluconolactona por oxígeno atmosférico en presencia de glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrógeno resultante se oxida como un indicador en presencia de la enzima peroxidasa (POD). La tinción, de esta manera, es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

GOD



POD



Componentes por prueba: GOD (*Aspergillus niger*) $\geq 3.2\text{U}$; POD (*horse-radish*) $\geq 3.2\text{U}$; 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidina (indicador) 72.6 µg; buffer (Reflotron Glucosa, Roche, 2006).

Los valores de glucosa plasmática basal obtenidos con el equipo Reflotron fueron comparados estadísticamente por valores obtenidos con el equipo portátil Accutrend GC.

HbA_{1c}

Para la medición de Hemoglobina Glucosilada (HbA_{1c}), se utilizó el equipo Micromat II de BIO-RAD. Se utilizaron los respectivos cartuchos de Cromatografía de afinidad

por boronato y la toma de muestra sanguínea fue de la misma manera que en el caso anterior; se utilizaron 10 μ l de sangre por cada muestra.

Principio de la prueba

Esta prueba usa cromatografía de afinidad por boronato para separar la fracción de hemoglobina glucosilada de la no-glucosilada. Ambas fracciones se cuantifican y un algoritmo convierte el resultado en el porcentaje de HbA_{1c} de la muestra.

Después de que el cartucho se coloca en el instrumento, se agrega una pequeña muestra de sangre al primer tubo. La sangre es lisada instantáneamente para liberar la hemoglobina, y la resina de afinidad por boronato se une a la hemoglobina glucosilada. Después de un breve proceso de incubación, el líquido se vierte en el embudo central del cartucho prueba y la fracción no-glucosilada es colectada en una cámara óptica donde la concentración de hemoglobina se mide fotométricamente. La hemoglobina glucosilada, permanece unida a la resina con afinidad por boronato, la cual se precipita al fondo de embudo del cartucho prueba. La resina con afinidad por boronato se lava con los contenidos de un segundo tubo (Buffer de lavado). El paso final es la elusión de la hemoglobina glucosilada fuera de la resina, usando un tercer tubo. La concentración de hemoglobina glucosilada es cuantificada y calculada por el instrumento (Micromat II, Hemoglobin A1c test, BIO-RAD, 2006).

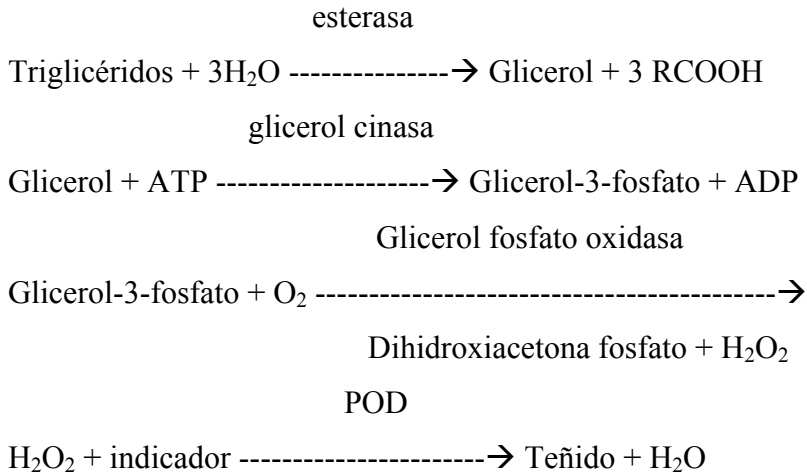
Triglicéridos

Para la medición de triglicéridos se utilizó el equipo Reflotron de Roche. Se utilizaron las respectivas tiras reactivas para triglicéridos y la toma de muestra sanguínea fue de la vena caudal de la rata; se utilizaron 32 μ l de sangre por cada muestra, los cuales se colectaron en tubos capilares heparinizados.

Principio de la prueba

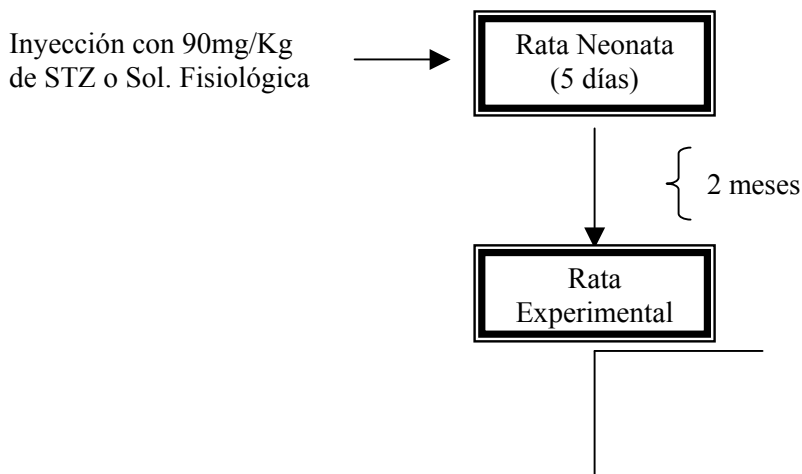
Después de la aplicación de la sangre a la tira de prueba, la muestra fluye a la zona de reacción, en el caso de la sangre, después de la separación de los eritrocitos del plasma. Los triglicéridos se someten a una reacción enzimática. Varias reacciones

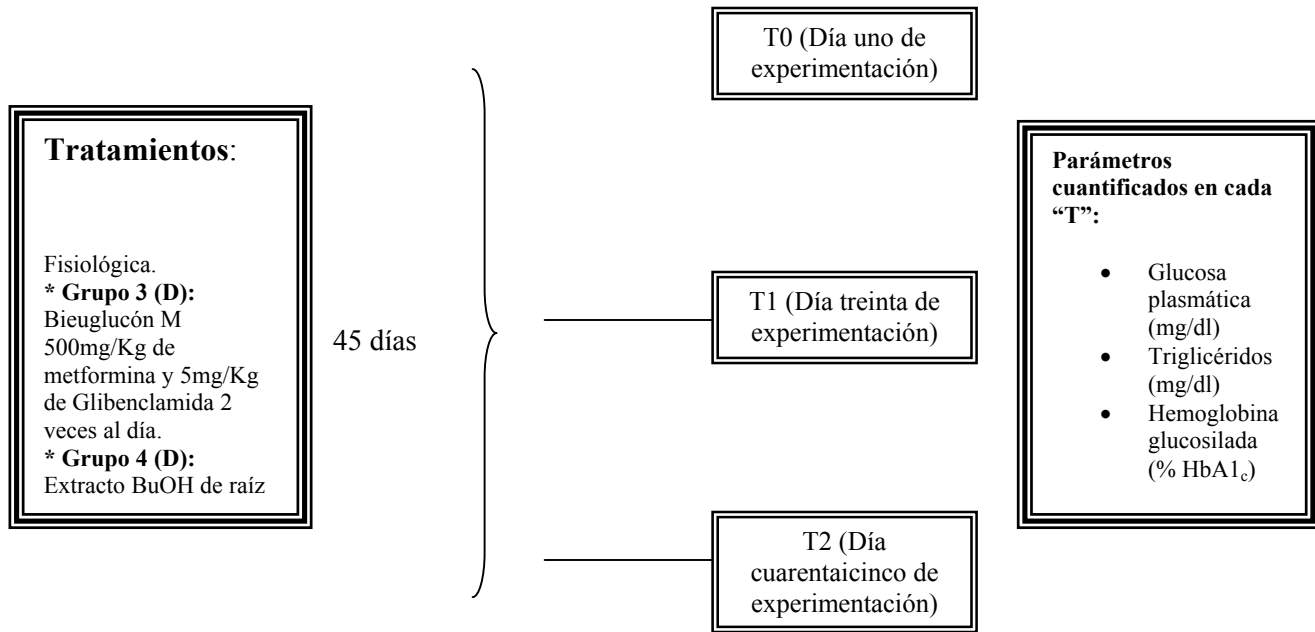
llevan a la formación de H₂O₂. Esto oxida un indicador REDOX a color azul en una reacción catalizada por la enzima peroxidasa:



Componentes por prueba: esterasa (microorganismos reconocidos) $\geq 0.36\text{U}$; Glicerol cinasa (Bac. Stearotermophilus) $\geq 0.86\text{U}$; glicerol fosfato oxidasa (microorganismos reconocidos) $\geq 0.07\text{U}$; POD (horseradish) $\geq 0.50\text{U}$; ATP; 48.96 μg ; 4-(4-dimetilaminofenil)-5-metil-2-(3,5,-dimetoxi-4-hidroxofenil)-imidazol dihidrocloruro (indicador); 36.72 μg ; buffer (Reflotron Triglicéridos, Roche, 2006).

Esquema general del diseño experimental:





3.4 Análisis estadístico

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

4. Resultados

4.1 Etnobotánica

Se confirmó que la diabetes tipo 2 es un problema de salud importante en la comunidad Maya de Chikindzonot. Los informantes comparten conceptos similares y maneras de percibir la enfermedad. En términos de cómo se refiere la gente a la enfermedad, 91% la llama diabetes y sólo 9% "Orina dulce", equivalente Maya de "Chu-juk'uis".

En Chikindzonot, el 80% de los pacientes con diabetes reciben medicamentos sintéticos y aprendieron acerca de su enfermedad después de ser diagnosticados en el centro de salud municipal. Como resultado de asistir al centro de salud municipal por diferentes motivos diferentes a la diabetes tipo 2, 14% de los pacientes fueron diagnosticados con esta enfermedad, los cuales están incluidos en el 80% mencionado. En resumen, el 80% tenía diagnóstico médico y sólo el 20% un diagnóstico tradicional.

En el 2005, 48 pacientes (83%) asistían al centro de salud una vez al mes, pero 10 (17%) no lo hacían, por lo tanto, estos casos permanecen estadísticamente no detectados por el sistema de salud mexicano. En 2003 había 10 casos detectados en el centro de salud, por lo que el incremento para 2005 es de 580% considerando sólo a los 48 pacientes detectados (Andrade-Cetto *et al*, 2006).

Se detectaron dieciocho especies utilizadas en el tratamiento de la diabetes tipo 2, muchas más que las que reportó Ankli en el 2000. De acuerdo a los resultados obtenidos, usando el Disease Consensus Index (Tabla 3), las especies más importantes utilizadas son *Cecropia peltata* L. (DCI: 0.74) y *Mosannonna depressa* (DCI: 0.56) (ya considerada por Ankli, 2000) ambos géneros son relativamente bien conocidos por su actividad hipoglucemiante. Si se comparan estos resultados con los anteriores reportados por Ankli *et al.* (1999), *Mosannonna depressa* es mencionada por los autores como la especie más importante con ocho reportes de uso y *Cecropia peltata* con solo cuatro (Andrade-Cetto, 2006).

Existe consenso en la forma tradicional de preparación del te medicinal de *M. depressa*, este es una infusión de 15-18g de raíz en un litro de agua, el cual se toma como “agua de uso”.

Tabla 3.

Especies usadas en la comunidad Maya de Chikindzonot en el tratamiento de la diabetes tipo 2

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre Científico</i>	<i>Familia</i>	<i>ΣVx</i>	<i>mVx</i>	<i>Valores DCI</i>
---------------------	--------------------------	----------------	------------	------------	--------------------

GUARUMBO	<i>Cecropia. peltata</i> L.	Cecropiaceae	15.8	0.93	0.78
ELEMUY	<i>Malmea depressa</i> (Baill.) Chatrou	Annonaceae	12.7	0.82	0.56
GUACO	<i>Aristolochia littoralis</i> D. Parodi	Aristolochiaceae	2.4	0.8	0.12
NONI	<i>Morinda yucatanensis</i> Greenm.	Rubiaceae	2.4	0.8	0.12
VIPEROL AK	<i>Crossopetalum gaumeri</i> (Loes) Lundell	Celastraceae	1.9	0.95	0.11
TRONADORA	<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	Bignoniaceae	1.9	0.95	0.11
MORAX	<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae	1.5	0.75	0.07
NOPAL	<i>Opuntia</i> sp.	Cactaceae	1	1	0.06
XPASMAR	<i>Ageratum houstonianum</i> Mill.	Asteraceae	1	1	0.06
AGUACATE	<i>Persea americana</i> Mill.	Lauraceae	1	1	0.06
COCO CHICO	<i>Cocos nucifera</i> L.	Arecaceae	1	1	0.06
HIGUERA CHICA	<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	1	1	0.06
PELO DE ELOTE	<i>Zea mays</i> L.	Poaceae	1	1	0.06
RESINA DE PLATANO	<i>Musa sapientum</i> L.	Musaceae	1	1	0.06
SAK-AK'	<i>Arrabidaea floribunda</i> Loes.	Bignoniaceae	1	1	0.06
PEPINO KAT	<i>Parmentiera aculeata</i> (Kunth) Seem.	Bignoniaceae	1	1	0.06
CHAYA	<i>Cnidocolus acontifolius</i> subsp. <i>acontifolius</i>	Euphorbiaceae	0.4	0.4	0.009
COCOYOL	<i>Acrocomia mexicana</i> Karw. Ex Mart	Arecaceae	0.2	0.2	0.003

4.2 Fitoquímica

De la columna cromatográfica del extracto BuOH de la raíz de *M.depressa* se obtuvieron 10 fracciones, las cuales se monitorearon por HPLC y se seleccionaron las más puras para un segundo proceso de purificación. A continuación se muestra la fracción más pura:

Fracción

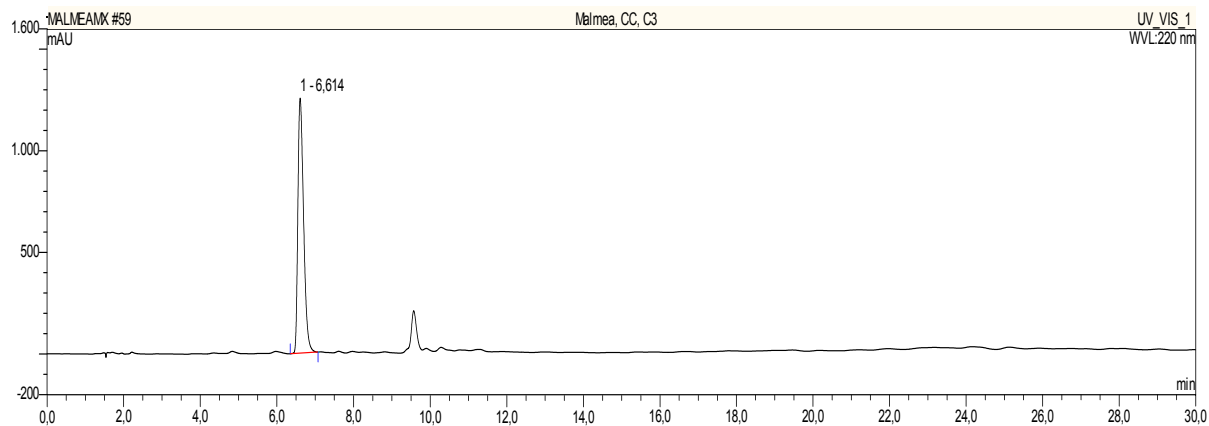


Tabla 4. Cromatograma de la fracción 4 del extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* mostrando el C3.

De las tres fracciones, la más pura, la que contenía al compuesto 3 (C3), fué seleccionada para análisis en NMR (Resonancia Magnética Nuclear) y la estructura del compuesto aislado fue resuelta con ayuda del Dr. Helmut Wiedenfeld, del Instituto de Farmacia de la Universidad de Bonn, Alemania. El compuesto 3 es 3-(3-hydroxy-2,4,5-trimeoxifenil) propano-1,2 diol (Fig. 3)

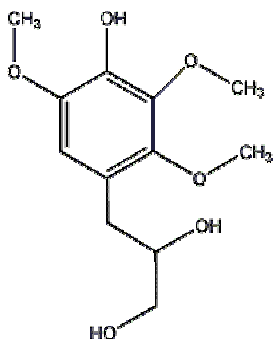


Fig. 3. Compuesto 3 presente en la 4ª fracción del extracto BuOH de la raíz de *M. depressa*. 3-(3-hydroxy-2,4,5-trimeoxifenil) propano-1,2 diol.

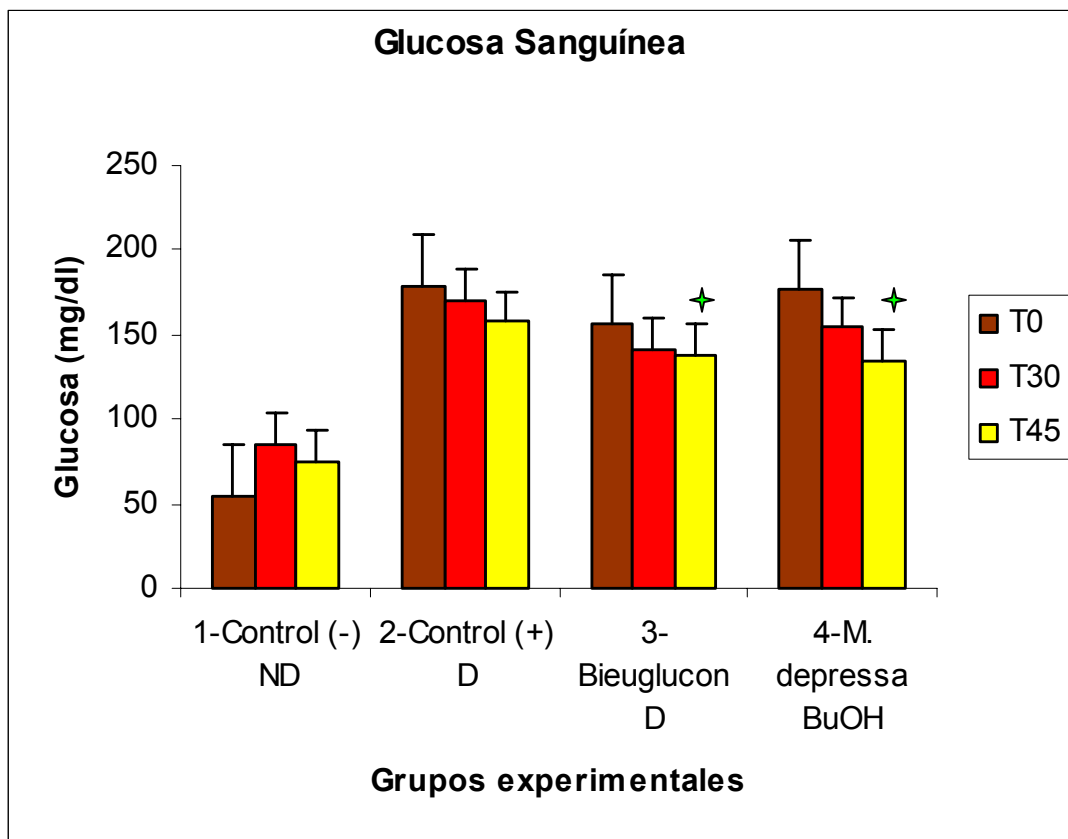
4.3 Farmacología

4.3.1 Glucosa sanguínea

Los valores medios de glucosa plasmática basal obtenidos como resultado de 45 días de tratamiento en los distintos grupos experimentales se presentan en la Tabla 5 y Gráfica 1.

Grupo / Tiempo (días)	Glucosa Sanguínea (md/dl)		
	T0	T30	T45
1-Control (-) ND	55±4	85±3 ^b	75±6
2-Control (+) D	179±13 ^a	170±10 ^a	158±3 ^a
3-Bieuglucon D	156±13 ^a	141±12 ^a	138±6 ^{ac}
4-M. depressa BuOH	177±7 ^a	154±6 ^a	135±8 ^{abc}

*Tabla 5. Glucosa sanguínea de los 4 grupos experimentales en los tres tiempos. *Media ± ES, n=4; a-muestra diferencias significativas (p<0.05) contra el Control (-) en el tiempo de muestra, b-muestra diferencia significativas contra el T0 del tratamiento, c-muestra diferencias significativas contra el Control (+) en el tiempo de muestra.*



Gráfica 1. Efecto de los distintos tratamientos sobre los valores de glucosa plasmática basal a los 45 días de tratamiento.

La gráfica muestra una clara diferencia entre los niveles de glucosa plasmática basal de los grupos controles ND y D. En el grupo que recibe *M. depressa*, se observa un decremento significativo de los niveles de glucosa plasmática basal a los 45 días de tratamiento en contraste con el T0 del mismo grupo y con los animales del grupo 2. Control (+) D, esto último también ocurre con el medicamento control (grupo 3).

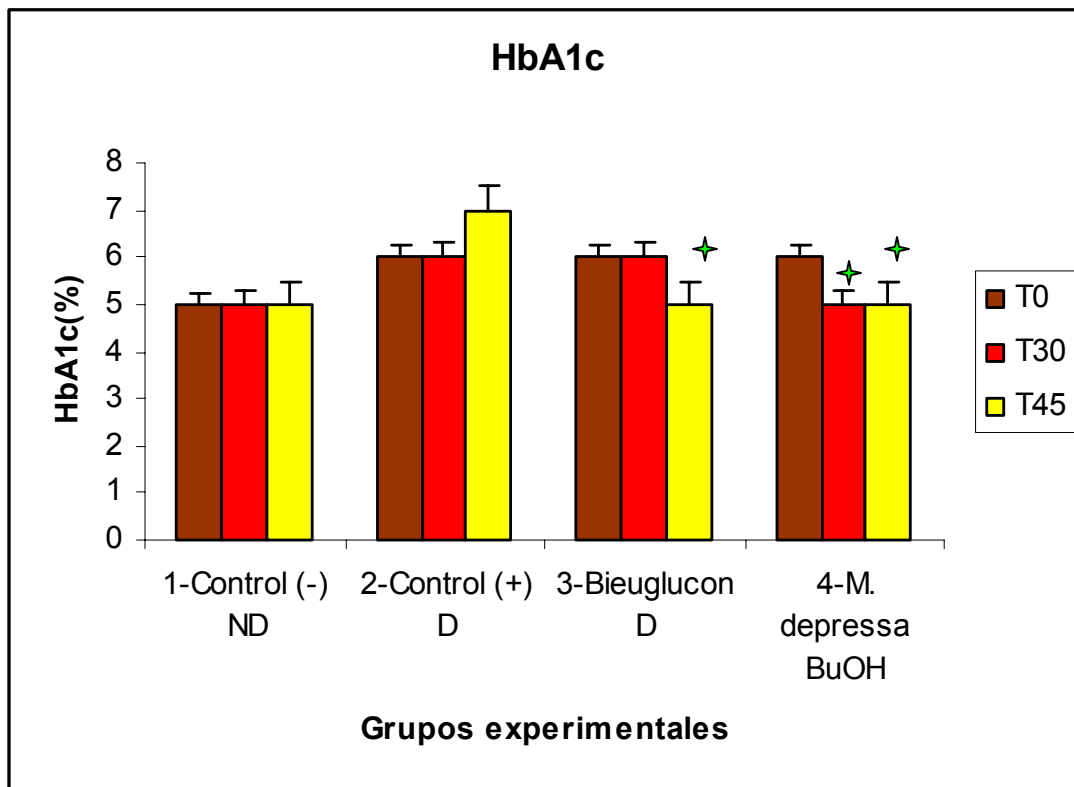
4.3.2 Hemoglobina Glucosilada (HbA_{1c})

Los valores medios del porcentaje de HbA_{1c} obtenidos como resultado de 45 días de tratamiento en los distintos grupos experimentales se presentan en la Tabla 6 y Gráfica 2.

Grupo / Tiempo (días)	HbA_{1c} (%)		
	T0	T30	T45
1-Control (-) ND	5±0.1	4.9±0.1	4.7±0.2
2-Control (+) D	5.9±0.2 ^a	6.1±0.3 ^a	7.3±1 ^{ab}
3-Bieuglucon D	5.9±0.4 ^a	5.6±0.4 ^a	5.3±0.3 ^{ac}
4-M. depressa BuOH	6.2±0.2 ^a	5.5±0.4 ^{ac}	5±0.4 ^{abc}

a

*Tabla 6. Hemoglobina Glucosilada (HbA_{1c}) de los 4 grupos experimentales en los tres tiempos. *Media ± ES, n=4; a-muestra diferencias significativas (p<0.05) contra el Control (-) en el tiempo de muestra, b-muestra diferencia significativas contra el T0 del tratamiento, c-muestra diferencias significativas contra el Control (+) en el tiempo de muestra.*



Gráfica2. Efecto de los distintos tratamientos sobre los valores de HbA1c a los 45 días de tratamiento.

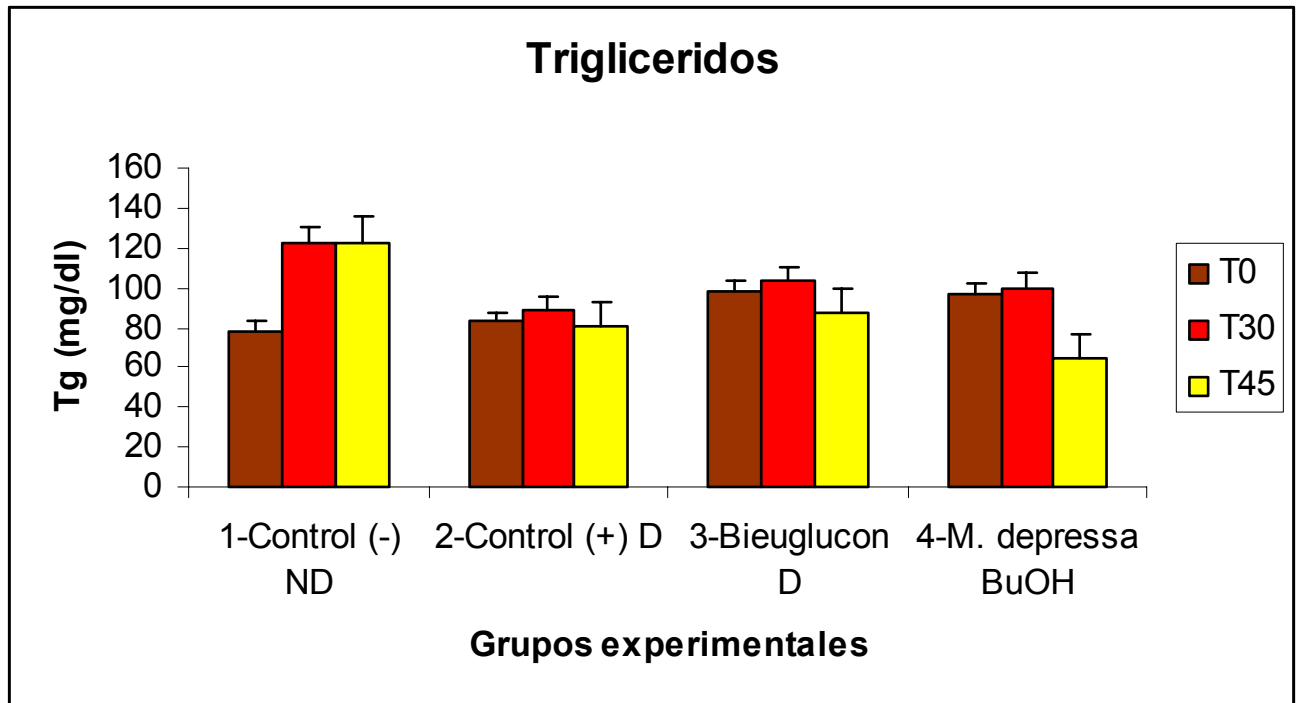
La gráfica muestra un decremento significativo en los valores medios del porcentaje de HbA_{1c} en los animales del grupo 4. *M.depressa* a los 45 días de tratamiento en comparación con el T0 del mismo grupo y a partir de los 30 hasta los 45 días de tratamiento en comparación con el grupo 2. Por su parte los animales que fueron tratados con el medicamento control (Bieuglucon), mostraron un decremento significativo hasta los 45 días de tratamiento contra el grupo2.

4.3.3 Triglicéridos

Los valores medios de triglicéridos obtenidos como resultado de 45 días de tratamiento en los distintos grupos experimentales se presentan en la Tabla 7 y Gráfica 3.

Grupo / Tiempo (días)	Trigliceridos (mg/dl)		
	T0	T30	T45
1-Control (-) ND	78±6	123±15 ^b	123±7 ^b
2-Control (+) D	83±20	89±11	81±16 ^a
3-Bieuglucon D	98±10	103±11	87±9 ^a
4-M. depressa BuOH	97±6 ^a	100±3	64±19 ^a

*Tabla 7. Trigliceridos de los 4 grupos experimentales en los tres tiempos. *Media ± ES, n=4; a-muestra diferencias significativas ($p<0.05$) contra el Control (-) en el tiempo de muestra, b-muestra diferencia significativas contra el T0 del tratamiento, c-muestra diferencias significativas contra el Control (+) en el tiempo de muestra.*



Gráfica 3. Efecto de los distintos tratamientos sobre los valores de trigliceridos a los 45 días de tratamiento.

La gráfica muestra diferencia significativa de los grupos 2, 3 y 4 contra el grupo 1 a los 45 días de tratamiento. A pesar de no ser significativo, se aprecia un decremento en los niveles de triglicéridos hacia los 45 días de tratamiento en los grupos 3 y 4.

5. Discusión

Etnobotánica

Mossannonna depressa ha resultado ser una especie muy apreciada como alternativa de salud y en muchos casos como primera opción en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en la comunidad Maya de Chikindzonot, Yucatán; según lo indicó el *Disease Consensus Index* aplicado (Andrade-Cetto, et al., 2006).

El hecho de que *M. depressa* se encuentre en segunda posición de importancia (DCI: 0.56) de una lista total de dieciocho especies utilizadas para el mismo tratamiento, nos muestra el conocimiento que poseen los informantes sobre la biología de la planta, la forma de preparación del remedio tradicional y el aprecio que le tienen y así mismo, estos datos apoyan los resultados reportados por Ankli *et al.* (1999), a pesar de que ellos no aplicaron un índice similar. Se demuestra de esta manera la importancia de esta especie como altamente potencial para estudios etnofarmacológicos.

En una última visita al mercado de Mérida, Yucatán, realizada a finales del 2006, se observó que 1kg de raíz de *M. depressa* tiene un precio aproximado de ochenta pesos. Si tomamos en cuenta que para la preparación de una infusión que se puede administrar a un paciente en un día entero, se necesitan de 15 a 20g de raíz, esto nos arroja un precio aproximado de un peso con sesenta centavos por día para un tratamiento crónico.

A pesar de que en el centro de salud local se prescriben medicamentos hipoglucemiantes, como glibenclamida y metformina de manera gratuita, en muchas ocasiones estos no están disponibles para el total de la población diabética del municipio de Chikindzonot. Esto nos lleva a ponderar la importancia de la accesibilidad y asequibilidad de *M. depressa* como recurso natural para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Modelo Animal y Farmacología

El establecimiento del modelo n-STZ en ratas Sprague-Dawley fue exitoso, así lo demostraron los valores medios de glucosa plasmática de los animales inyectados al quinto día postnacimiento con 90mg/Kg. de STZ, en comparación con los animales inyectados con la solución vehículo. Se observó que la glucosa plasmática de los animales diabéticos (grupos 2, 3 y 4) a los dos meses de la inyección, tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$), con los animales control (grupo 1).

Por otra parte los porcentajes de HbA_{1c} de los animales diabéticos de los grupos 2, 3 y 4, también presentaron diferencias significativas con los animales control (grupo 1) al iniciar el experimento, lo que sustenta aún mas el establecimiento del modelo.

Los resultados farmacológicos del presente estudio muestran en primera instancia que el medicamento control (Bieuglucon) tiene un efecto significativo ($p < 0.05$) en la reducción de los niveles de glucosa plasmática basal a los 45 días de su administración, así como en los niveles de porcentaje de HbA_{1c}, los cuales también se ven disminuidos en el mismo tiempo, en contraste con el grupo control 2. Estos resultados demuestran que el modelo de ratas n-STZ es adecuado para el estudio de tratamientos crónicos.

La administración del extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* tiene un efecto significativo ($p < 0.05$) en la reducción de los niveles de glucosa plasmática también a los 45 días de tratamiento, como ocurrió con el medicamento control, sin embargo, los niveles de porcentaje de HbA_{1c} se ven disminuidos de manera significativa, en comparación con el grupo control 2, desde los 30 días de tratamiento y hasta el final del experimento.

A su vez, se observa un descenso en los niveles de triglicéridos en el grupo tratado con *M.depressa* hacia los 45 días de administración, sin embargo esta disminución no es estadísticamente significativa.

Fitoquímica

Andrade-Cetto y colaboradores en 2005, demostraron la presencia de 4 compuestos principales en el extracto acuoso (te medicinal) de la raíz de *M. depressa*, mismos compuestos que se encontraron en el extracto BuOH, aunque en mayor concentración. Hasta ese momento sólo se habían podido aislar y estructurar dos compuestos de los presentes en dicho extracto, los cuales fueron categorizados como derivados del fenil-butano, compuestos reportados en 1981 como agentes hipoglucemiantes. En este trabajo se logró aislar y estructurar un tercer compuesto de los presentes en el extracto BuOH de la raíz de *M. depressa*, tal compuesto entra dentro del grupo de compuestos conocidos como propanodiolos. Hasta el momento no hay reportes sobre la actividad hipoglucemiante de este tipo de compuestos.

Notas Finales

Este estudio nos confirma el potencial farmacológico de *M. depressa* como una planta hipoglucemiante; especialmente los resultados sobre la reducción de los niveles de HbA_{1c}, el cual es un parámetro muy importante en el diagnóstico del control metabólico de un paciente diabético apoyados en los valores de glucosa plasmática basal, ya que los valores de glucosa solos, en ocasiones pueden ser muy fluctuantes y arrojar resultados erróneos.

Pudimos observar claramente que la administración diaria de 20mg/Kg de extracto BuOH de *M. depressa*, tiene un mejor efecto farmacológico en el control de los niveles de HbA_{1c} de las ratas diabéticas que la administración conjunta de 500mg/Kg de metformina y 5mg/Kg de glibenclamida (Bieuglucon).

Aun, restan hacer estudios más finos sobre los posibles mecanismos de acción por medio de los cuales el extracto de la raíz de *M. depressa* pudiese estar ejerciendo su efecto hipoglucemiante. Soto-Constantino (2006, comunicado interno) reporta actividad insulina-secretora significativa a los 15min de haber sido administrado el

extracto BuOH de *M. depressa* a partir de una dosis de 5mg/Kg en ratas Sprague-Dawley n-STZ.

Es claro que ésta especie es una alternativa de tratamiento actual para las comunidades indígenas mexicanas, principalmente los mayas de los estados de Yucatán y Quintana Roo, a quienes les es accesible este recurso. Es propio considerar alternativas de conservación para *M. depressa*, ya que el potencial farmacológico que presenta, es susceptible de explotación en un futuro. En la actualidad esta especie solo es colectada por los curanderos que conocen con precisión el sitio donde se distribuye y únicamente colectan las raíces adventicias sin dañar el resto del árbol. Recordando que aunado al uso de plantas hipoglucemiantes la comunidad diabética también hace uso de medicamentos de patente, la explotación que presenta esta especie en la actualidad es mínima.

Si *M. depressa* llegase a ser considerada por farmacéuticas involucradas en el desarrollo de fitomedicamentos, se tendría que pensar en el desarrollo de técnicas de cultivo controlado para evitar daño a las poblaciones naturales, así como para la estandarización de la producción de los metabolitos secundarios presentes en la planta involucrados con su actividad hipoglucemiante.

No es utópico pensar que esta especie pudiera convertirse en una opción para el desarrollo de un fitomedicamento, que repercutiría en la salud de la población mexicana que sufre de diabetes mellitus tipo 2 o mejor aún, que se encuentra en etapa de diagnóstico temprano; y de esta manera mejorar la calidad de vida de la población en etapa más productiva para México.

6. Conclusiones

- *Mosannonna depressa* es una especie altamente utilizada para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en la comunidad maya de Chikindzonot Yucatán, según lo reveló el DCI.
- El tratamiento crónico con la droga control Bieuglucon (Metformina 500mg/Kg y Glibenclamida 5mg/kg) tiene un efecto significativo en el control glucémico de ratas diabéticas n-STZ a los 45 días de su administración por vía oral.
- El tratamiento crónico con el extracto BuOH de la raíz de *M. depressa* tiene un efecto significativo en el control glucémico de ratas diabéticas n-STZ, a partir de los 30 días de su administración por vía oral a una dosis de 20mg/Kg.
- El modelo de ratas diabéticas n-STZ, es muy útil para llevar a cabo estudios de tipo crónico, ya que la hiperglucemia moderada, así como otros parámetros característicos de la enfermedad están presentes.
- Se aisló y determinó la estructura química de 3-(3-hidroxy-2,4,5-trimeoxifenil) propano-1,2 diol, aunado a los compuestos previamente aislados en el extracto BuOH de *M. depressa*.
- Se necesita realizar estudios sobre la actividad de los compuestos aislados de manera independiente, para determinar cual de ellos es el activo y así poder dilucidar su mecanismo de acción.

Referencias

- American Diabetes Association. Página Web: www.diabetes.org
- Andrade-Cetto, A. y Heinrich, M., 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 325-348.
- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J., Martínez-Zurita, E., Ortega-Larrocea, P. y Heinrich, M., 2006. Disease-Consensus Index as a tool of selecting potential hypoglycemic plants in Chikindzonot, Yucatán, México. *Journal of Ethnopharmacology* 107, 99-204.
- Andrade-Cetto, A., Martínez-Zurita, E. y Wiedenfeld, H., 2005. Hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 100, 319-322.
- Ankli, A., 2000. Yucatec Mayan medicinal plants: ethnobotany, biological evaluation and phytochemical study of *Crossopetalum gaumeri*. Tesis Doctoral. ETH Zürich, Nr. 13555, pp.289.
- Ankli, A., Sticher, O., Heinrich, M., 1999. Medicinal ethnobotany of the Yucatec Maya: healers' consensus as a quantitative criterion. *Economic Botany* 53, 144-160.
- APG [= Angiosperm Phylogeny Group] II., 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141, 399-436.
- APG [= Angiosperm Phylogeny Group], 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 85, 531-553.
- Argueta, A. (ed.), 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana II. 1ª ed. INI, México. 611 p.
- Arulmozhi D., Veeranjanyulu, A. y Bodhankar, S., 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal of Pharmacology* 36, 217-221.
- Becerra-Jiménez, J., 2005. Estudio sobre el efecto de 5 plantas hipoglucemiantes mexicanas sobre la absorción de glucosa intestinal, en ratas (n-stz) diabéticas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 75 pp.
- Berne, R. y Levy, M., 2002. *Principles of Physiology*. Elsevier Science Imprint, pp.680.
- Bidasee, K., Dincer, D. y Besch, H., 2001. Ryanadine Receptor Dysfunction in Hearts of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Molecular Pharmacology* 60, 1356-1364.
- Bonnier-Weir S., Trent, E., Honey, R., y Weir, G., 1981. Response to neonatal islets to streptozotocin: Limited cell regeneration and hyperglycemia. *Diabetes* 30, 64-9.
- Bristol-Myers Squibb Company, 2004. Glucovance (Glyburide and Metformin HCL tablets).
- CESEM, 2006. Página del Centro de Servicios Municipales Heriberto Jara, Gobierno de México. www.cesemheribertojara.org.mx

- Chatrou, L.W., 1997. Studies in Annonaceae XXVIII. Macromorphological variation of recent invaders in northern Central America: the case of *Malmea* (Annonaceae). *Amer. J. Bot.* 84, 861-869.
- Chatrou, L.W., 1998. Changing genera: systematic studies in Neotropical and West African Annonaceae. PhD thesis, Utrecht University. pp.224.
- Chatrou, L.W., Rainer, H. y Maas, P.J.M., 2004. Annonaceae. Pp. 18-20 *In*: Smith, N, S.A. Mori, A. Henderson, D.W. Stevenson & S.V. Heald. (eds.), *Flowering Plants of the Neotropics*. Princeton University Press, Princeton.
- Degirmenci, I., Cengiz, M., Kalender, Y., Kalender, S., Veysi, H., 2005. The effects of acarbose and *Rumex patientia* L. on ultrastructural and biochemical changes of pancreatic B cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 555-559.
- Gaedcke, F. y Steinhoff, B., 2003. *Herbal Medicinal Products*. CRS press, Germany, p.200.
- Gutiérrez-Lugo, M., Barrientos-Benítez, T., Ramírez-Gama, B., Bye, R., Linares, E. Mata., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of some crude extracts from Mexican Medicinal Plants. *Phytomedicine* 2, 341-347.
- Holmstedt, B. y Bruhn. J., 1983. Ethnopharmacology – A Challenge. *Journal of Ethnopharmacology* 8, 251-256.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. Página Web: www.imss.gob.mx
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. www.cuentame.inegi.com.mx
- 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.
- Lapolla, A., Traldi, P. y Fedele, D., 2005. Importance of measuring products of non-enzymatic glycation of proteins. *Clinical Biochemistry* 38, 103-155.
- Missouri Botanical Garden. Página Web: www.mobot.com
- Moller, D., 2001. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature*, 414, 821-827.
- Murray, N.A., 1993. Revision of *Cymbopetalum* and *Porcelia* (Annonaceae). *Systematic Botany Monographs* 40. American Society of Plant Taxonomists, Ann Arbor.
- Pirie, M.D., Chatrou, L.W., Mols, J.B., Erkens, R.H.J. y Oosterhof, J., 2006. ‘Andean-centred’ genera in the short-branch clade of Annonaceae: testing biogeographic hypotheses using phylogeny reconstruction and molecular dating. *J. Biogeogr.* 33, 31–46.
- Portha, B., Giroix, M., Serradas, P., Movassat, J., Bailbe, D. y Kergoat, M., 2001. The neonatally streptozotocin-induced (n-STZ) diabetic rats, a family of NIDDM models, 247-271p. En: Anders, A. Sima, F. y Shafrir, E. (Eds), *Animal models of diabetes a primer*, Harwood Academic Publishers, pp.364.
- Roche., Página Web: www.roche.com
- Rolandsson, O., Marklund, S., Norberg, M, Agren, A. y Hagg, E., 2004. HemoglobinA1c can be analyzed in Blood Kept Frozen at -80°C and is not

- commonly affected by hemolysis in the general population. *Metabolism* 53, 1496-1499.
- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México, pp.432.
 - Schultes, O., 1991. Historical perspective and future of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 32, 7-24.
 - Secretaría de Salud. Página Web: www.ssa.gob.mx
 - Sharrott, H., 2006. Molecular phylogenetics and historical biogeography of *Mosannona* (Annonaceae). MSc thesis, Utrecht University, the Netherlands, pp. 45.
 - Soliman, R. y Feid-Allah, H., 1981. Preparation and antidiabetic activity of new 3-methyl-5-phenylpyrazolesulfonylurea derivatives. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 70, 602-605.
 - Standley, P. y Steyermark, J., 1946. *Flora de Guatemala*. Part IV. *Fieldiana, Botany* 24, 270- 294.
 - Su, Y.C.F., Mols, J.B., Takeuchi, W., Keßler, P.J.A., Saunders, R.M.K., 2005. Reassessing the generic status of *Petalolophus* (Annonaceae): evidence for the evolution of a distinct sapromyophilous lineage within *Pseuduvaria*. *Syst. Bot.* 30, 494-502.
 - Tabuchi, M., Ozaki, M., Tamura, A., Yamada, N., Ishida, T., Hosoda, M., y Hosono, A., 2003. Antidiabetic effect of *Lactobacillus* GG in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 67, 1421-1424.
 - Tosi, F., Muggeo, M., Brun, E., Spiazzi, G., Perobelli, L., Zanolin, E., Gori, M., Coppini, A. y Moghetti, P., 2003. Combination Treatment With Metformin and Glibenclamide Versus Single-Drug Therapies in Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized, Double-Blind, Comparative Study. *Metabolism* 52, 862-867.
 - Witters, L., 2001. The blooming of the French lilac. *Journal of Clinical Investigation* 108, 1105–1107.
 - World Health Organisation. Página Web: www.who.int

APÉNDICE

1. Datos generales de los 49 pacientes entrevistados en la comunidad de Chikindzonot, Yucatán.

Informantes Diabéticos/ Sexo	promedio	Ocupación	% de uso de plantas
35 Mujeres	56	En su mayoría amas de casa	66%
14 Hombres	57	En su mayoría campesinos	86%

2. Formato de cuestionario aplicado en la comunidad de Chikindzonot, Yucatán, para la determinación del *Disease Consensus Index* (DCI).

CUESTIONARIO

FOLIO No. _____

RESPONSABLE _____

Nombre _____

Dirección _____

Comunidad: CHZ _____ EKP _____ Escolaridad _____

Sexo : F M Edad _____ Ocupación _____

Lengua: Esp. _____ Maya _____ Bilingüe _____

Cómo detectó que tiene diabetes

Como llama el paciente a la enfermedad

Tiempo de presentar la enfermedad

Cómo define el paciente la enfermedad (en qué consiste)

Antecedentes familiares con diabetes

Asiste a algún Centro de salud o Servicio Médico **SI NO Cual:**

Con qué regularidad:

Qué tratamiento lleva **Metf Glib Acarb Otro:**

Última medición de glucosa(mg/dL)

Lleva alguna dieta o alimentación especial

Conoce a alguien que padezca la enfermedad

Utiliza alguna planta para la diabetes, ¿Cuál? *Malmea depressa* (**elemuy**), *Cynanchum schlehtendalli* (**xtum-ak'**), *Eupatorium odoratum* (**tok'aban**), *Parmentiera aculeata* (**pepino cat, Kait**), *Tecoma stans* (**k'andol, tronadora**), *Bauhinia divaricata* (**may vaca, pata de vaca**), *Acalypha alopecuroides* (**xmisbil, mehenmis, cola de gato**), *Samyda yucatanensis* (**naranja ché**), *Persea americana* (**on, aguacate**), *Cecropia obtusifolia* (**xk'oochle, guarumo**), *Zea mays* (**maíz, cabello de elote, atole, pinole**), *Zingiber officinale* (**katku'ut, jengibre**)

INFORMACIÓN ETNOBOTÁNICA

1. Nombre de la planta (*índice*)
2. Descripción de la planta (*índice*)
3. ¿Cómo se prepara la planta? (*índice*)
4. Modo de administración durante un tratamiento (dosis) (*índice*)
5. Características organolépticas (recomendaciones de Michael) (*índice*)
6. Tiempo de consumirlo
7. Síntomas después de consumir el tratamiento (*índice*)
8. ¿Con qué frecuencia usa la planta como tratamiento? Rara vez (1 a 2 veces por mes), algunas veces (< 10 veces al mes), casi siempre (15> y <25 veces al mes) o siempre (25 a 30 veces al mes) (*índice*)
9. Considera que le ha sido útil su consumo o uso (*índice*)
10. Cuando la consigue, ¿para cuánto tiempo le dura?(*índice*)
11. Ha recomendado esta planta (*índice*)
12. Conoce algún otro uso para esta planta
13. Motivo de utilización de la planta (p.e. confianza, recomendada, por fe, etc)
14. Con que frecuencia tiene acceso a la obtención de la planta
15. ¿Quién se la recomendó?