



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE *Tournefortia hirsutissima* L. y  
*Parathesis lenticellata* Lundell EN RATAS DIABÉTICAS (nSTZ)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ISABEL MEJÍA LUNA

TUTOR

DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

2007





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.

**1. Datos del alumno**

Mejía  
Luna  
Isabel  
55 65 68 21  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
083343597

**2. Datos del Asesor**

Andrade  
Cetto  
Adolfo

**3. Datos de la Tesis**

Efecto hipoglucemiante de *Tournefortia hirsutissima* L. y *Parathesis lenticellata* Lundell en ratas diabéticas (nSTZ)

48 p.

2007

**Hoja de Datos del Jurado**

**1. Datos del alumno**

Mejía  
Luna  
Isabel  
55 65 68 21  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
083343597

**2. Datos del Tutor**

Dr.  
Adolfo  
Andrade  
Cetto

**3. Datos del sinodal 1**

Dr.  
Rene de Jesús  
Cárdenas  
Vázquez

**4. Datos del sinodal 2**

Biol.  
Eddy Cuauhtemoc  
Martínez  
Zurita

**5. Datos del sinodal 3**

M.V.Z.  
Mario Javier  
Soriano  
Bautista

**6. Datos del sinodal 4**

M. en C.  
Abigail  
Aguilar  
Contreras

**7. Datos del trabajo escrito**

Efecto hipoglucemiante de *Tournefortia hirsutissima* L. y *Parathesis lenticellata* Lundell en ratas diabéticas (nSTZ)  
48 p.  
2007

Portada  
Índice General  
Resumen  
Introducción  
Antecedentes  
Justificación  
Objetivos  
Hipótesis  
Metodología  
Resultados  
Discusión  
Literatura citada

**Palabras clave:** hipoglucemiante, *Tournefortia hirsutissima*, *Parathesis lenticellata*, ratas diabéticas, estreptozotocina, n-STZ, diabetes, plantas medicinales, etnofarmacología.

## **Dedicatoria**

A mi hija, Annia  
por darme la oportunidad  
de sentir lo maravilloso  
que es dar vida.

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

División de Estudios Profesionales

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

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

**"Efecto hipoglucemiante de *Tournefortia hirsutissima* L. y  
*Parathesis lenticellata* Lundell en ratas diabéticas (nSTZ)"**

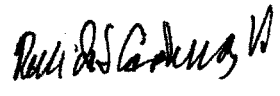
realizado por **Isabel Mejía Luna**


con número de cuenta **08334359-7**, quien cubrió los créditos de la licenciatura en

**Biología**

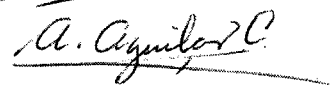
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Tutor (a) **Dr. Adolfo Andrade Cetto**   
Propietario

Propietario **Dr. Rene de Jesús Cárdenas Vázquez** 

Propietario **Biol. Eddy Cuauhtemoc Martínez Zurita** 

Suplente **M.V.Z. Mario Javier Soriano Bautista** 

Suplente **M. en C. Abigail Aguilar Contreras** 

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, D.F., a 31 de Enero  
CONSEJO DEPARTAMENTAL DE BIOLOGIA

del 2007

Dr. Zenón Cano Santana

FACULTAD DE CIENCIAS



CIUDAD DE ENSEÑANZA  
DE BIOLOGIA

## **Agradecimientos**

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto por sus valiosos consejos, orientaciones y la oportunidad de la realización del presente proyecto de Tesis.  
Gracias por su amistad.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Etnofarmacología;  
Eddy, Jaime, Anita, Paty y Amaranta  
por compartir un espacio, experiencias y risas.

Al personal del Bioterio de la Facultad de Ciencias;  
M.V.Z. Mario Soriano, M en C Agustín Jiménez, las biólogas Dora e Isabel,  
por la facilitación de los animales de experimentación  
y recordarme las técnicas de cuidado y manejo de los animales.

A la Dra. Pilar Ortega Larrocea  
por facilitar el proceso de molienda para iniciar la parte farmacológica.

A los sinodales por sus valiosos comentarios y correcciones a la presente Tesis.



## Agradecimientos en el Tiempo

A mi primera mentora y guía en el proceso de investigación siendo apenas una estudiante y de quien aprendí mucho. Gracias Dra. Ma. Teresa Aguirre Alcantara.

A mis amigas de la Normal, Sandra, Gabriela, Adriana, Magali y Lola, por su apoyo y amistad y la cantidad de sonrisas que me arrancaron.

A mis profesores de la ENE por su comprensión y apoyo. Gracias maestros: Roxana, Maricela, Ana María, José de Jesús y José Antonio.

A mis padres, Rebeca y Daniel por darme la vida.

A mi esposo Arturo por su apoyo y cariño.

A Lupita, amiga de la Preparatoria a quien el temblor del '85 detuvo su corazón a pesar de su incansable lucha por seguir adelante.

A mis amigas de toda la vida: Silvia, Lety, Ana María, Maribel, Gelos, Esther, Martha y Marisol

# ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
I. ANTECEDENTES.....	4
1.1. Diabetes mellitus.....	4
1.2. Niveles de glucemia.....	5
1.3. Clasificación de la Diabetes.....	7
1.4. Diabetes en México.....	9
1.5. Modelos experimentales utilizados en diabetes.....	10
1.6. Tratamientos farmacológicos en diabetes.....	12
1.7. Etnofarmacología.....	17
1.8. La medicina tradicional mexicana.....	18
1.9. Plantas hipoglucemiantes.....	19
1.10. Descripción del material botánico de estudio.....	20
1.10.1. <i>Tournefortia hirsutissima</i> L.....	20
1.10.2. <i>Parathesis lenticellata</i> Lundell.....	22
JUSTIFICACIÓN.....	23
OBJETIVOS.....	24
HIPÓTESIS.....	25
II. METODOLOGÍA.....	26
2.1. Colecta del Material vegetal.....	26
2.2. Preparación de los extractos.....	26
2.3. Análisis fitoquímico.....	27
2.4. Pruebas farmacológicas.....	28
2.5. Estadística.....	31
III. RESULTADOS.....	32
3.1. Datos de Colecta.....	32
3.2. Fitoquímica.....	34
3.3. Pruebas farmacológicas.....	36
IV. DISCUSIÓN.....	40
V. CONCLUSIONES.....	44
VI. LITERATURA CITADA.....	45

## **Efecto hipoglucemiante de Tournefortia hirsutissima L. y Parathesis lenticellata Lundell en ratas diabéticas (nSTZ)**

### **RESUMEN**

El estado de Veracruz se ubica dentro de los cinco primeros lugares de incidencia de Diabetes mellitus en México. En la región, al igual que en otros estados de la República Mexicana se recurre con frecuencia al consumo de plantas con actividad medicinal para combatir la enfermedad. En la herbolaria veracruzana, Lágrima de San Pedro (*Tournefortia hirsutissima* L) y Chagalapoli (*Parathesis lenticellata* Lundell) han mostrado actividad contra el padecimiento. En este trabajo se evaluó el efecto hipoglucemiante de los extractos de las plantas al administrar de forma aguda a un modelo de ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (n-STZ), lo cual permitió comprobar que ambas especies presentan efectivamente actividad hipoglucemiante.

Los extractos de la corteza de *T. hirsutissima* L, preparados en solución acuosa (Ac) y butanólica (BuOH) a concentraciones de 233 mg/Kg y 80 mg/Kg respectivamente presentaron efecto hipoglucemiante después de la primera hora de ser administrados; con una significancia de  $P \leq 0.001$  para el extracto acuoso. Mientras que el extracto acuoso (Ac) de las hojas de *P. lenticellata* Lundell, a una concentración de 93.3 mg/Kg produjo efecto hipoglucemiante después de transcurridas tres horas de su administración con una diferencia significativa de  $P \leq 0.05$  con respecto al grupo de control diabético.

Los extractos de *T. hirsutissima* (Ac y BuOH) y *P. lenticellata* (Ac) evaluados en las pruebas fitoquímicas por el HPLC dieron como resultado la presencia de cinco compuestos asociados con la actividad de cada planta.

En el análisis por CPF se determinó la presencia de fenoles para *T. hirsutissima* y terpenos en *P. Lenticellata* grupos de metabolitos secundarios que se han relacionado con efectos hipoglucemiantes anteriormente.

El extracto Ac de *T. hirsutissima* a una concentración de 233 mg/Kg reduce hasta en un 22.2% la glucosa circulante en el torrente sanguíneo de nuestro modelo diabético.

## INTRODUCCIÓN

Los metabolitos naturales que se han identificado con actividad hipoglucemiante son flavonoides, xantonas, triterpenos, alcaloides, algunos aminoácidos, guanidinas y polisacáridos, entre otros compuestos fitoquímicos. Los mecanismos de acción sobre los seres vivos de las plantas con efectos hipoglucemiantes en algunos casos aún son desconocidos, lo que propicia un creciente interés sobre la elucidación e interpretación de la forma en que actúan metabólicamente.

Una línea de trabajo al respecto es la Diabetes mellitus; enfermedad que se ha incrementado en la población mundial en las últimas décadas sobre todo en la gente en edad productiva.

Esta incidencia es favorecida por aspectos genéticos presentes en las poblaciones humanas y que son resultado adicionalmente a los nuevos estilos de vida que se llevan, esto ha detonado una alarmante preocupación por el aumento de los niveles de glucosa circulante en torrente sanguíneo. Por esta razón una pronta y adecuada atención por parte de las Instituciones de Salud Pública y Privada podrían proponer como alternativa terapéutica el consumo de plantas medicinales que reduzcan la hiperglucemia de los pacientes diabéticos y así ofrecer a los distintos grupos sociales y étnicos otro medio de atención a la enfermedad.

El presente trabajo comprobó que dos especies, Lágrima de San Pedro (*Tournefortia hirsutissima* L.) y Chagalapoli (*Parathesis lenticellata* Lundell) utilizadas en el Estado de Veracruz, México como tratamientos herbolarios contra la Diabetes mellitus presentan efecto hipoglucemiante al ser administradas en forma aguda a un biomodelo de ratas diabéticas (n-STZ).

En la literatura se encuentran reportes sobre el uso de infusiones de hojas y corteza de *T. hirsutissima* con efecto hipoglucémico. En el estado de Veracruz se utiliza preferentemente la infusión de la corteza para tratamientos diuréticos y antidiabéticos.

En la región de los Tuxtlas, particularmente las infusiones de las hojas de *P. lenticellata* son consumidas como agua de uso en el tratamiento de la Diabetes.

Por el endemismo de está última resultaba interesante el comprobar si presentaba algún efecto de tipo hipoglucemiante.

## I. ANTECEDENTES

### 1.1. DIABETES MELLITUS

La Diabetes mellitus resulta de la secreción deficiente de insulina. Esta deficiencia puede ser absoluta o relativa. Los mecanismos patológicos que producen diabetes van desde la destrucción autoinmunitaria de las células beta del páncreas (en cuyo caso hay una deficiencia absoluta de insulina), hasta situaciones en que se observa resistencia a la insulina (deficiencia de insulina relativa) (Islas, 2001, Lerman, 2004).

La hiperglucemia es el marcador bioquímico de la diabetes como respuesta a las alteraciones en el metabolismo intermedio de carbohidratos, lípidos y proteínas principalmente. Islas (2001) señala que en la práctica cualquier trastorno que produzca elevación de la glucosa plasmática después del ayuno tiende a denominarse Diabetes mellitus.

La Organización Mundial de la Salud (WHO, 1999) define a la Diabetes mellitus como el conjunto de desordenes metabólicos caracterizados por etiologías múltiples entre las que se cuentan; hiperglucemia crónica con disturbios en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas resultado de los defectos en la secreción de insulina, su acción o ambos, cuyo efecto a largo plazo incluye disfunción y daño en varios órganos.

Antes de la aparición franca de Diabetes Tipo 2, aparece el "Síndrome Metabólico X", el cual se manifiesta principalmente por al menos tres de las siguientes condiciones; alteraciones en el metabolismo de los lípidos (particularmente concentraciones bajas de colesterol de HDL y altas de triglicéridos y apoproteína, hipertensión arterial, intolerancia a carbohidratos o hiperglucemia ligera de ayuno y obesidad central o visceral, hiperuricemia, microalbuminuria, hiperferritinemia, elevación de fibrinógeno, PAI-1, factor de Von Willehbrandt, esteatosis hepática no alcohólica (EHNA), esteato-hepatitis no alcohólica (NASH) y más recientemente hiperhomocisteinemia , y resistencia a la Insulina propiamente dicha (Lerman, 2004).

## 1.2. NIVELES DE GLUCEMIA

Normalmente, los niveles de glucosa sanguínea se encuentran en el rango de 80 a 110 mg/dL en ayuno; sin embargo cuando estas concentraciones rebasan los 140 mg/dL, la glucosa se pierde por vía urinaria causando glucosuria. La utilización de glucosa por muchos tejidos, incluyendo el muscular y el adiposo dependen directamente de la secreción de insulina y su correcta transportación al interior celular.

Siendo la concentración de glucosa sanguínea una de las características de la Diabetes mellitus (DM), para su diagnóstico la Asociación Americana de Diabetes (ADA, 1997) considera la presencia de todos o alguno de los siguientes aspectos:

- Síntomas característicos de diabetes (poliuria, polidipsia, pérdida de peso) y concentraciones de glucosa en ayuno igual o mayor a 220 mg/dL.
- Concentración plasmática de glucosa en ayuno (FPG) igual o mayor de 126 mg/dL sin manifestación aparente. El ayuno se considera como la ausencia de ingesta calórica con un mínimo de 8 horas.
- Prueba de Tolerancia a la glucosa (CTG) con glucemia mayor a 200 mg/dL después de dos horas de administrado en ayunas. La carga oral de glucosa para la prueba es de 75 g de glucosa anhidra, disuelta en agua.

La ADA propone el valor de 109 mg/dL de glucosa en ayuno como el límite superior normal para considerar la "Resistencia a la Insulina"; ya que a esta concentración es a partir de la cual se pierde la primera fase de secreción de insulina en respuesta a la administración de una carga intravenosa de glucosa (Mancillas, 2002, LeRoith, et al, 2003).

La liberación de la insulina depende de los niveles de glucosa. Una hiperglucemia resulta por bajos niveles de insulina o altos niveles de glucagón como resultado de la estimulación a los procesos metabólicos de glucogenólisis y gluconeogénesis en hígado (Garrido, 2005). El aumento de las hormonas que controlan los niveles de la glucosa se relaciona con la respuesta a la hipoglucemia o bien a la acción hiperglucémica que pueden desencadenar la resistencia a la insulina. En ausencia de insulina, algunos órganos, hacen uso de los aminoácidos y ácidos grasos como fuente alternativa de energía. (Manuchar, 2002).

Los individuos diabéticos que sufren de desordenes metabólicos generalmente asociados con la deficiente producción de insulina cursan por dos fases. La primera fase de la enfermedad está marcada por una resistencia a la insulina, una alimentación rica en carbohidratos y grasas, además de inactividad física, esto con el paso del tiempo puede favorecer el aumento de la masa corporal debido a la incorrecta utilización de la glucosa por los músculos y tejidos adiposos acelerando el proceso de obesidad. Posteriormente, la segunda fase se da cuando las células beta pancreáticas dejan de percibir los niveles de hiperglucemia y de reaccionar normalmente a ellos dando paso a la DM tipo 2 (LeRoith, et al, 2003). Dichos factores al incrementar las concentraciones de glucosa afectan también a los riñones provocando padecimientos relacionados con las vías urinarias al alterar los procesos osmóticos de la membrana renal (Figura 1) (Manuchar, 2002).

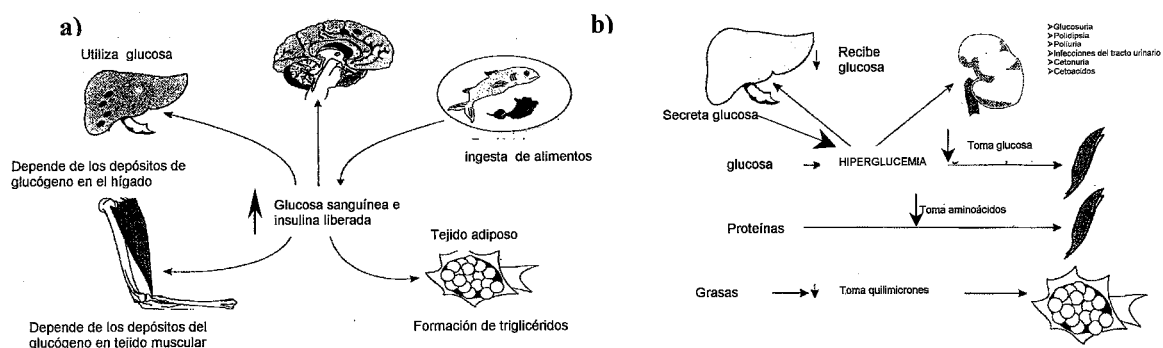


Figura 1: a) Rutas metabólicas de la glucosa y b) sus consecuencias por hiperglucemia. Modificado de Manuchar, Ebadi (2002)



### 1.3. CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES

En el año de 1979, el National Diabetes Data Group (NDDG) de los Estados Unidos publica la primera clasificación de la intolerancia a la glucosa en relación con la Diabetes mellitus basada en la historia familiar del paciente y su forma de evolución. Para 1985 un Comité de Expertos de la OMS revisa la clasificación y proponen una nueva basada en la dependencia o no de insulina, denominándose Insulino dependiente (IDDM) o no insulino dependiente (NIDDM) así como sus características clínicas.

Posteriormente en 1997, el Comité Internacional de Expertos de la OMS y NDDG proponen una reclasificación la cual considera las diferencias etiológicas y sus formas, dando una división de 4 clases principales: Diabetes tipo 1, Diabetes tipo 2, diabetes gestacional y otros tipos específicos de diabetes.

Un cambio relevante en la clasificación actual consiste en reconocer que existen fases evolutivas durante la historia natural de la diabetes. De esta forma se admite que existen tres fases: a) la de regulación normal de la glucosa, b) la de anormalidad de glucosa en ayuno o tolerancia alterada de la glucosa y c) la de diabetes mellitus propiamente dicha (Mancillas, 2002).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (WHO) y a la Asociación Americana de Diabetes (ADA) se mencionan las características que comprende las 4 clases de Diabetes.

- **Diabetes tipo 1.** Los pacientes con esta forma de diabetes la presentan desde edades muy cortas (infancia o juventud) caracterizada por una destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas.

Esta forma incluye los casos que resultan de un proceso autoinmunitario, incluyendo anticuerpos antiinsulina, autoanticuerpos contra insulina, autoanticuerpos contra la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD<sub>65</sub>) y autoanticuerpos contra fosfatasas de tirosina IA-2, IA-2B. Por lo menos uno o más de estos anticuerpos están presentes en 80%-90% de los pacientes cuando muestran hiperglucemia en ayuno. Normalmente los individuos dependen de

administración vía intravenosa de insulina exógena para prevenir cetoacidosis e insulinopenia.

- **Diabetes tipo 2.** Es la forma con mayor prevalencia en el mundo contemporáneo y ocurre en individuos que tienen resistencia a la insulina más un defecto en la capacidad secretora de la misma. Los pacientes generalmente son personas mayores de cuarenta años.

Actualmente, estadísticas del sistema de salud en México reportan la presencia del padecimiento en edades menores a los treinta y cinco años asociados a factores ambientales ocasionados por sedentarismo, mala nutrición y estrés.

El individuo puede ser o no obeso, y controlar su hiperglucemia por ejercicio o bien por administración de fármacos orales.

- **Diabetes gestacional:** Durante el embarazo algunas mujeres sufren una alteración en la homeostasis de la asimilación de glucosa incrementada por los niveles de estrógenos y progesterona, el cual conduce a una hiperplasia de las células beta del páncreas incrementando una respuesta de la insulina a la glucosa. Durante la segunda mitad del embarazo los niveles de lactogeno placentario modifican la utilización de glucosa materna y de aminoácidos, propiciando un cuadro clínico asociado a una diabetogénesis.

- **Otros tipos específicos:** Agrupa situaciones de diabetes generadas por aspectos genéticos, daños al páncreas por acción de infecciones virales, sustancias químicas o quirúrgicas, que el paciente puede cursar desde nacimiento o en el transcurso de su vida. Su tratamiento dependerá de las características etiológicas presentes en mayor grado.

En cualquiera de las clases de DM no bien tratadas o controladas pueden presentarse complicaciones como microangiopatías, glomérulo esclerosis intracapilar, retinopatía, aterosclerosis, hipertensión arterial, así como, neuropatías asociadas con úlceras, necrosis de órganos y tejidos periféricos (pie diabético), disfunciones del aparato excretor y reproductor principalmente. (Itamar, 2003, LeRoith, 2003).

#### 1.4. DIABETES EN MÉXICO

La Diabetes mellitus es un problema de salud creciente, serio y costoso. Muchos países en desarrollo han experimentado incremento en la incidencia de Diabetes mellitus. La morbilidad en países subdesarrollados ha ido en aumento asociado a la enfermedad. En el año 2000 la DM tipo 2 afectaba a 171 millones de personas en todo el mundo. La OMS calcula que para el 2030 cerca de 366 millones de personas presentarán la enfermedad. (Wild 2004, WHO, 2005).

En la actualidad más de 180 millones de personas tienen diabetes, un mal que puede reducir hasta en veinte años la expectativa de vida de quien la padece y con un progresivo deterioro de su salud. En México el panorama es poco alentador, sobre todo por los hábitos alimenticios y la vida sedentaria, factores que ponen en riesgo la vida de la población mexicana. De acuerdo a los resultados de la Encuesta Nacional de Salud (2000), la prevalencia de la Diabetes mellitus tipo 2 en adultos mayores de 20 años de edad, pasó de 6.7% en 1993 a 7.5% en el 2000, destaca el documento que en estos pacientes se incrementa de dos a cuatro veces el riesgo de morir por enfermedades cardíacas (SSA, 2005).

En el 2002 la CONAPO reportó a la Diabetes mellitus en el primer lugar de enfermedades con mortalidad más frecuentes entre la población con acceso a algún servicio médico. Durante el 2004 con un incremento de 90%, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) la reporta en el segundo lugar de motivos de atención en consulta externa en medicina familiar y el primer lugar en especialidades (Membreño, 2005).

Esta incidencia habla que cerca del 10% de la población mexicana padece la enfermedad, cifra que podría incrementarse a 16% en menos de una década.

El costo anual tan sólo en el sector público se estima alrededor de los tres mil millones de pesos al año. Por esta razón la diabetes se ha convertido en una prioridad de atención para las instituciones médicas del sector público y privado (Federación Mexicana de Diabetes, 2006).

México ocupa hoy el noveno lugar a nivel mundial con incidencia de Diabetes, se pronostica que en dos décadas podríamos estar ocupando el séptimo lugar. De ahí que se enfoquen esfuerzos a la atención de los pacientes diabéticos y se motive a la población en general a reducir los posibles factores de riesgo al realizarse pruebas preventivas para detectar oportunamente la enfermedad, ya que si una persona desarrolla diabetes antes de los 40 años de edad se expone por un tiempo mayor a los efectos y complicaciones del padecimiento (ENSA, 2006). En cuanto a población con problemas de obesidad México ocupa el segundo lugar a nivel mundial, situación que puede estar asociada a la Diabetes tipo 2 (FMD, 2006).

### **1.5. MODELOS EXPERIMENTALES UTILIZADOS EN DIABETES**

Esta enfermedad ha sido estudiada en animales que desarrollan la diabetes debido a la alteración principalmente de las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas y en la cual intervienen factores patogenéticos que se complementan con daños posteriores a su desarrollo. Esta situación se puede apreciar en varias especies de mamíferos como el hamster chino, ratones, ratas, conejos, perros y monos. Los biomodelos más representativos son las ratas de las cepas Wistar, Worcester y Ottawa; así como los ratones NOD (non obese diabetic) (Alarcón-Roman, et al, 1998, Portha, 2002, Hugues, 2002, Itamar, 2003).

Los modelos experimentales con mayor presencia en estudios de DM de tipo 2 son ratas y ratones, debido a sus similitudes fenotípicas de hiperglucemia, resistencia a la insulina y su adaptabilidad al manejo en condiciones experimentales.

Existen drogas o sustancias químicas ya probadas que son capaces de provocar la diabetes en animales no diabéticos o estados de hiperglucemia en animales sanos. Algunas de estas drogas pueden inducir a la resistencia insulínica o al daño de las células beta y provocar la enfermedad. Dentro de estas

sustancias se encuentra la estreptozotocina (STZ), antibiótico de amplio espectro citotóxico.

En las ratas la inducción con STZ puede darse en la etapa adulta (entre las 8 a 10 semanas) o bien al nacimiento (modelo neonato). Los síntomas que se manifiestan en la rata adulta suelen incluir hipoinsulinemia, hiperglucemia, glucosuria, pérdida de peso, polidipsia, poliuria y cetoacidosis. En análisis histopatológicos de los islotes pancreáticos se ha llegado a observar infiltración de monocitos y destrucción de las células beta después de la aplicación de STZ (Hitman, 1999, Portha, 2002, Hugues, 2002 Itamar, 2003).

El modelo neonato (n-STZ) se produce cuando la administración por STZ se efectúa durante la primera semana de vida de la rata y la enfermedad se manifiesta más tardíamente. La inducción puede ser al nacer (n0), a los 2 días (n2) o a los 5 días (n5). Los modelos experimentales con cepas Wistar y Sprague-Dawley de 0, 2 y 5 días de nacidos al ser inducidas por STZ (n-STZ) mostraron mayor nivel de destrucción en las células beta del páncreas inicialmente, pero con regeneración posterior sobre las mismas, presentando estados de hiperglucemia moderada; acercándose al símil etiológico de la Diabetes tipo 2. (Bonner, 1981, Takeshi Ota, 1999, Portha, 2002, Hugues , et al, 2002, Lei Li, 2004).

Los biomodelos experimentales requieren que el fenotipo sea el más similar a la enfermedad humana, permitiendo así una secuenciación del ADN y los genes relacionados con la misma.

A continuación se mencionan las características del modelo neonato (n5-STZ) en rata Wistar (Portha, 2002, Itamar, 2003, Arulmozhi, et al, 2004).

- Rata Wistar neonata, modelo que puede ser inducido vía intraperitoneal o intravenosa desde los 0, 2 ó 5 días del nacimiento al aplicar 90 mg/kg de STZ diluido en buffer de citratos pH 4.3.

El modelo n5-STZ de rata Wistar se produce al inyectar intraperitonealmente a la rata de 5 días post-nacimiento con STZ. A las dos semanas de inyectada se aprecia una regeneración parcial de las células beta del páncreas. Después de ocho a diez semanas de inducida el modelo muestra alteración en la glucosa basal, hiperglucemia moderada, hemoglobina glucosada alta, reducción de células beta pancreáticas y una disminución de hasta 50% de insulina plasmática. En el modelo n-STZ la relación que existe entre la acción de la glucosa y la insulina ha demostrado experimentalmente defectos en la glucólisis oxidativa (Arulmozhi, et al, 2004).

## **1.6. TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS EN DIABETES**

El control de la glucemia en pacientes diabéticos esta relacionado con la cantidad de insulina presente en el torrente sanguíneo y como actúa sobre ciertas sustancias a nivel fisiológico.

Desde la década de los años veinte el tratamiento para la DM tipo 1 ha sido con aplicaciones de insulina en diferentes dosis dependiendo de las condiciones de glucemia del paciente.

En 1942 Janbon y colaboradores, observaron que algunas sulfonamidas causaban hipoglucemia en animales experimentales, por lo que ciertos agentes orales hipoglucemiantes se iniciaron como la vía sustituta para el manejo del control en pacientes diabéticos (Guthrie, 2000). A principios de los cincuenta se instituyeron estudios clínicos con tolbutamida, sobre sujetos no dependientes de insulina y con características de hiperglucemia, lo que favoreció el uso de los primeros compuestos orales para la DM tipo 2 (Godman, 1996).

Los agentes orales se clasifican de acuerdo a su mecanismo de acción y su composición química en:

a) Sulfonilureas   b) Biguanidas   c) Tiazolidinedionas   e d) Inhibidores de las alfa glucosidasas

Los mecanismos de acción hipoglucémica se pueden agrupar en:

- i) Pancreática: Estimulando la secreción de insulina
- ii) Extrapancreática: a) Estimulando la sensibilidad de los tejidos y receptores de la insulina; b) Activando directamente los receptores de membrana y; c) Indirectamente reduciendo la hiperglucemia, disminuyendo la concentración plasmática de ácidos grasos y reduciendo la extracción de insulina hepática.

Existe una gran cantidad de compuestos que se han probado buscando la disminución de la hiperglucemia.

Por sus características farmacológicas los hipoglucemiantes orales se dividen en:

#### **a) SULFONILUREAS**

Se han utilizando desde 1955 como agentes hipoglucemiantes, y aunque su mecanismo de acción es complejo estos compuestos actúan fundamentalmente al estimular la secreción de insulina (Godman, 1996). Algunos estudios señalan que entre los posibles efectos extrapancreáticos de las sulfonilureas es la mejora sobre la sensibilidad a la insulina y el número de receptores de ésta, y la terapia crónica con ellas reduce la producción de glucosa hepática con la consecutiva hiperglucemia basal al efectuar cambios mínimos en la concentración de insulina plasmática (Itamar, 2003, Islas, 2001).

**Mecanismos de acción:** Aumentan la estimulación a las células beta de los islotes de Langerhans para la liberación de insulina; este efecto, se produce por un bloqueo de la bomba K<sup>+</sup>-ATPasa, lo que inicia una depolarización prolongada de la membrana celular, permitiendo el ingreso de iones Ca<sup>++</sup> extracelular activando la liberación de la insulina de los gránulos secretorios al torrente sanguíneo.

Ejemplos: Glibenclamida gliclacida, glipizida, tolbutamida, acetohexamida, tolazamida y clorpropamida

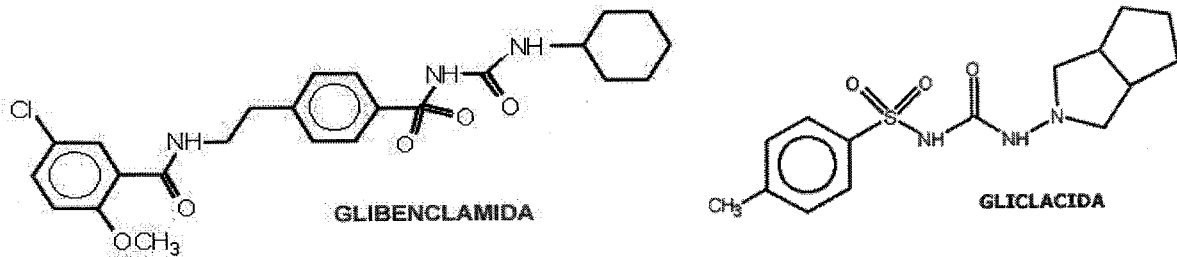


Fig. 2. Ejemplos de sulfonilureas de 2ª. generación

### b) BIGUANIDAS

Estos medicamentos fueron introducidos en el mercado como agentes hipoglucemicos en 1957. De éstos se mantiene en uso la metformina, que a diferencia de las sulfonilureas, no causa hipoglucemia por debajo de los niveles de normoglucemia, ni tampoco aumento de peso. El mecanismo de acción exacto es aún controversial, pero existe el convencimiento de que su efecto hipoglucemiante no se debe a la estimulación de la secreción de insulina. (LeRoith, 2003, SAM Diabetes, 2005).

**Mecanismos de acción:** Consisten en la inhibición de la gluconeogénesis hepática y del incremento de la glucólisis anaeróbica, con la consiguiente elevación de alanina, glicerol y ácido láctico en el torrente sanguíneo, favoreciendo la disminución en la absorción intestinal de la glucosa.

Ejemplos: Metformina

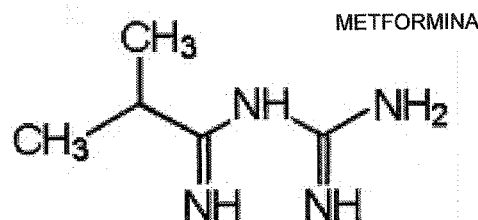


Fig. 3. Fórmula química de metformina agente hipoglucemiante



### c) TIAZOLIDINEDIONAS

Son fármacos hipoglucemiantes que originalmente fueron desarrollados como hipolipidemiantes. La primera de ellas fue la ciglitazona, la cual demostró una disminución de la glucemia en modelos animales, pero con poco efecto clínico. En 1997 se lanzó al mercado la troglitazona, pero fue retirada por hepatotoxicidad, normalmente su uso es propuesto como terapia combinada con algún otro fármaco (SAM Diabetes, 2005).

**Mecanismos de acción:** Estos fármacos se unen al subtipo  $\gamma$  del receptor nuclear cromosómico de proliferación, activado por peroxisomas (PPAR $\gamma$ ) produciendo un aumento en la transcripción de genes de las enzimas que normalmente son inducidas por la insulina, esta acción se lleva a cabo fundamentalmente en el tejido muscular y graso, traduciendo en un aumento de la utilización periférica de la glucosa disponible. Al parecer aumentan los niveles de insulina en organismos con resistencia a esta última al incrementar el número de transportadores de glucosas (Hernández-Jiménez, et al, 2002, Itamar, et al, 2003).

Ejemplos: Rosiglitazona, Troglitazona y Pioglitazona

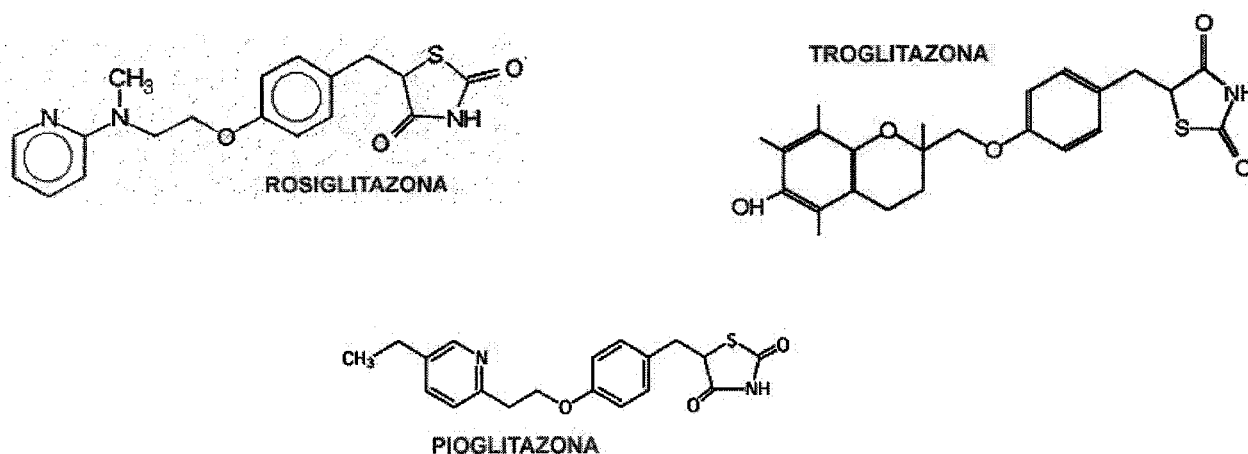


Fig. 4. Ejemplos de tiazolidinedionas de uso más frecuente como agentes orales en el tratamiento de la Diabetes mellitus tipo 2.

#### d) INHIBIDORES DE LAS ALFA GLUCOSIDASAS

Son hipoglucemiantes orales que pueden suprimir o retardar la ruptura de los carbohidratos complejos en moléculas más simples para evitar la elevación de glucosa postprandial. Esta familia de inhibidores posee características enzimáticas responsables sobre la digestión de los carbohidratos a nivel de los intestinos (SAM diabetes, 2005).

**Mecanismos de acción:** Bajo la inhibición reversible y competitiva de las alfa glucosidasas en el borde en cepillo de la mucosa intestinal, se producen un retraso en la absorción de los carbohidratos complejos con la consiguiente reducción del pico máximo de la glucosa postprandial (LeRoith, 2003).

Ejemplos: Acarbosa y Miglitol

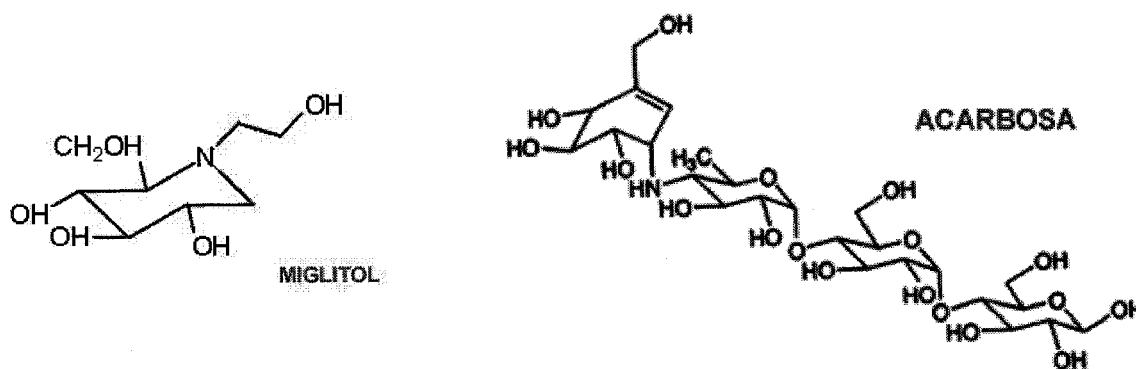


Fig. 5 Estructuras moleculares de los agentes orales que actúan a nivel de glucosa postprandial.

## 1.7. ETNOFARMACOLOGÍA

El presente estudio se circunscribe en el marco de la Etnofarmacología, a continuación se da una breve descripción de esta ciencia.

La Etnofarmacología es considerada una ciencia interdisciplinaria basada en la observación e investigación experimental de la actividad biológica de los principios de plantas y animales usados en la medicina tradicional de las culturas presentes y pasadas (Holmstedt, 1983; Schultes, 1991; Heinrich and Gibbons, 2001). Para Etkin y Elisabetsky (2005) no solo es la observación y su investigación; además involucra el estudio de los mecanismos farmacológicos y toxicológicos de la acción específica del compuesto, ya que esto permite identificar con más detalle los constituyentes y su actividad, su forma de preparación y su farmacodinámica como un proceso de validación sobre las formas tradicionales de administrar los extractos de las plantas.

La etnofarmacología entonces comprende estudios botánicos, antropológicos, sociológicos, médicos, químicos y farmacéuticos que en su conjunto permiten un mejor análisis del efecto de las drogas y sus principios activos.

La necesidad de conocer con fundamentos el uso terapéutico de algunos principios activos de las plantas utilizadas en la medicina tradicional y salvaguardar la protección de los ambientes naturales ha orientado a los investigadores a emprender un estudio serio de las plantas medicinales para determinar cuales surten efecto y por que lo hacen. Las investigaciones no sólo nos ayudan a comprobar las virtudes que se han atribuido a muchas de ellas, sino que además enriquecen el acervo botánico con nuevas especies útiles y antes poco estudiadas.

Las plantas siguen constituyendo la materia prima para la industria farmacéutica al extraer sus principios activos aislados para la elaboración de medicamentos de patente, sin embargo no debemos olvidar que en algunas ocasiones los medicamentos sintéticos presentan más efectos secundarios nocivos que las plantas solas no tienen.

## 1.8. LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA Y LA BÚSQUEDA DE NUEVAS FORMAS TERAPÉUTICAS

La investigación científica sobre plantas medicinales ha tenido una amplia trayectoria a lo largo de la historia de México, desde la época prehispánica y más formalmente durante la colonia se tienen documentos que ejemplifican las distintas plantas con alguna acción terapéutica. Sin embargo, investigaciones con fines químicos o farmacológicos eran relativamente escasos, lo que impedía la incorporación de las plantas como medicamentos a la medicina moderna.

La investigación médica formal de estos recursos se inició en las dos últimas décadas del Siglo XIX. La expectación creció entonces en los países en desarrollo por la búsqueda de las drogas presentes en las plantas medicinales las cuales habían sido utilizadas por generaciones en las poblaciones indígenas. El mejor criterio de la selección de una planta para su estudio era y es con el apoyo de los informantes o curanderos locales, los cuales identifican el uso terapéutico de la planta de manera empírica (Lozoya, 1994, Hersch, 1999).

A finales del siglo pasado, las plantas medicinales vuelven atraer a diversos sectores sociales, tanto en nuestro país como en el extranjero, varios son los motivos de este interés, entre ellos, el propósito de retornar a la naturaleza y también el de continuar explotándola con fines lucrativos. Es en la década de los noventa cuando se retomó la organización multidisciplinaria de la investigación en la flora medicinal cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) lanzó un plan de acción sanitario de alcance mundial bajo el lema de "Salud para todos en el año 2000". La propuesta de la OMS era utilizar la medicina herbolaria tradicional con el fin de generar recursos baratos y culturalmente apropiados para la población, a fin de cumplir con los objetivos propuestos de elevar la condición médico-sanitaria de los países más pobres, no obstante que la herbolaria ha existido antes de estos objetivos (Rivera, 1999).

En la botánica mexicana se mencionan 5,000 especies utilizadas en la medicina tradicional, de las cuales el 25% son completamente de uso autóctono.

Del Sistema Nacional de Investigadores Mexicanos solamente el 0.5% realiza trabajos sobre plantas medicinales. En 1999, solo se tenía registrada a *Psidium guajava* como la única planta medicinal mexicana de tipo fitofármaco ante la SSA (Lozoya, 1999).

Es evidente que las plantas medicinales son un patrimonio reconocido de las culturas del México prehispánico y constituyen una riqueza ancestral producto de una inmensa variedad de climas y altitudes, lo cual se traduce en una pluralidad de nichos de estudio. El conocimiento preciso de sus características y de sus efectos, resulta de una observación detallada y cuidadosa de la naturaleza y es el marco de referencia en busca de su validación con una connotación completamente científica.

### **1.9. PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES**

A inicios del siglo XX, estudiando la planta *Galega officinalis*, usada en Europa durante la Edad Media para tratamientos antidiabéticos, se determina la presencia de guanidina, principio activo con propiedades hipoglucemiantes; sin embargo se suspendió su uso debido a su toxicidad en estudios clínicos (Godman, 1996); no obstante abrió las puertas a las primeras investigaciones de plantas con efecto hipoglucemiante.

En México a pesar de los antecedes en medicina tradicional era poco identificada la diabetes inicialmente, cuando una persona refería algún problema relacionado con la orina y su cambio de condición, está situación más bien era asociada a problemas diuréticos o renales y de esa manera eran tratados. La enfermedad fue reconocida como tal cuando se descubrió el páncreas como glándula responsable de la producción de insulina y la carencia de está asociada al padecimiento (Guthrie, 2000), por está razón todos los tratamientos de carácter botánico para contrarrestar directamente a la Diabetes o con algún efecto hipoglucemiante se iniciaron apenas el siglo pasado.

Dentro de la medicina tradicional mundial se mencionan cerca de 800 plantas usadas en el control de la Diabetes mellitus (Alarcón-Aguilar, 1998). En el

caso de México, Andrade-Cetto (2005), reporta alrededor de 306 especies que están relacionadas con el tratamiento de la diabetes o con actividad hipoglucemiante. El grupo más representativo es la familia de las Asteraceas con 15.4% de especies con actividad hipoglucémica, seguido de las Fabaceas con un 8.8% y las cactáceas en 5.3%. De la familia de las boragináceas tan solo se reportan 4 especies ubicadas entre los géneros *Tournefortia* y *Cordia* sp. Estas últimas equivalen al 1.3% de presencia sobre el total de plantas hipoglucémicas de la herbolaria mexicana.

## 1.10. DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO DE ESTUDIO

### 1.10.1. *Tournefortia hirsutissima* L.

Bejuco leñoso semitrepador de tallos cilíndricos hirsutos a glabrescentes, hojas ovadas a elípticas de hasta 18 cm de largo y 9.5 cm de ancho con pelos de color tirado a castaño, inflorescencias terminales, cáliz de 2-3 mm largo, hispídulo, corola 6-8 mm largo, flores pequeñas blancas sésiles en cimas escorpoideas, frutos de bayas globosas, blancas translúcidas lo que permite ver la semilla como un punto negro, semillas de 3 a 4. La floración se presenta de febrero a mayo y el fruto entre marzo a octubre.

Habita en hamacas y pantanos, de suelos de piedra caliza o en suelos orgánicos húmedos bien drenados con capa de humus.

Distribución : En América del Norte y el Caribe (Atlas de Florida de Plantas Vasculares, 2005).

Distribución en México: Guerrero, Jalisco, Morelos, Sinaloa, San Luis Potosí, Oaxaca, Veracruz y Estado de México. (Campos Villanueva, 2004).

Parte de la planta utilizada: el tronco y las hojas

Usos más frecuentes: tratamientos diuréticos y Diabetes.

Reino Plantae  
División Magnoliophyta  
Clase Magnoliopsida  
Orden Lamiales  
Familia Boraginaceae  
Género *Tournefortia*  
Especie *hirsutissima* (L)



Sinonimias: *Messerschmidia hirsutissima* (L), Roem & Schult (1819), *T. alba*, y *Heliotropium verdcourtii*, Craven (2005).

Nombre común: Lágrima de San Pedro, nigua, perlitas, ortiguilla, nigüita, tlachichinol, bejuco cayaya.

Fig. 6. Florescencia de *Tournefortia hirsutissima* L.

**Antecedentes Fitoquímicos:** En el género de *Tournefortia* sp se ha reportado la presencia de compuestos polifenólicos, alcaloides y esteroides principalmente (Yun-Lian Lin, et al , 1999 y 2002). Para *T. hirsutissima*, Gabriel Suárez (2002) determina la presencia de esteroides en el extracto acuoso de las hojas.

**Antecedentes Farmacológicos:** En estudios realizados sobre la actividad hipoglucémica de *T. hirsutissima* en ratas y conejos tratados con alloxan en pruebas de tolerancia a la glucosa se demostró una disminución de glucosa con una diferencia significativa de  $P < 0.05$  después de 3 horas de la administración del extracto acuoso de la planta. (Gabriel Suárez, 2002 y Alarcón Ramos, et al, 1998).

### 1.10.2. *Parathesis lenticellata* Lundell

Planta leñosa con las hojas alternas, enteras y coriáceas y con glándulas resinosas. No tienen estípulas. Flores hermafroditas o agrupadas en panoja, corimbos, racimos, etc. Sépalos persistentes. Flores pequeñas amarillentas y fragantes en panajos terminales. Fruto una baya acostillada y de color rojo brillante.

Arbusto localizado en la selva media subperennifolia en trópicos a la altitud de 700m snmm. La especie es endémica de la zona de los Tuxtlas Veracruz, México.

Habita en hamacas, pantanos costeros e interiores. Se presenta en suelos húmedos bien drenados de piedra caliza.

Distribución en México: Los Tuxtlas, Veracruz (Missouri Botanical Garden [www.mobot.org](http://www.mobot.org))

Parte de la planta utilizada: las hojas

Usos: Antidiabético y diurético

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Rosopsida
Orden	Primulales
Familia	Myrsinaceae
Género	<i>Parathesis</i>
Especie	<i>lenticellata</i> (Lundell)

Sinonimias: *Ardisia* sp

Nombre común: Chagalapoli



Fig. 7 Fruto y florescencia de *Parathesis lenticellata* Lundell



Antecedentes fitoquímicos y farmacológicos no se tiene ningún reporte para el género de *Parathesis* sp.

Existen pocos trabajos farmacológicos con otros géneros de la familia myrsinaceae de tipo hipoglucemico.

## JUSTIFICACIÓN

Dentro de la herbolaria *Tournefortia hirsutissima* L, es mencionada como producto con actividad antidiabética. Esta planta tiene bastante aceptación en el Estado de Veracruz y los pocos estudios realizados en otros modelos experimentales, nos motivaron a probar el efecto hipoglucemiante agudo en el modelo neonato inducido por estreptozotocina (n-STZ). Asimismo *Parathesis lenticellata* Lundell, no contaba con ningún tipo de estudio farmacológico o fitoquímico, si la población veracruzana tiene acceso al consumo de está última es conveniente realizar las pruebas que validen si presenta algún efecto que influya en la disminución en la concentración de glucosa sanguínea.

**NOTA:** Debido a que en pruebas farmacológicas del extracto acuoso de *P. lenticellata* solo mostro efecto significativo transcurridos 180 minutos, se decidió no realizar las pruebas con el extracto butanólico para evitar el gasto innecesario de reactivos.

## OBJETIVO GENERAL

- Probar el efecto hipoglucemiante agudo de *Tournefortia hirsutissima* L y *Parathesis lenticellata* Lundell, en ratas neonatas con diabetes inducidas por estreptozotocina (n-STZ).

### Objetivos específicos del método farmacológico

- Probar el efecto hipoglucemiante agudo del extracto acuoso de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L en ratas neonatas con diabetes inducida por estreptozotocina (n-STZ).
- Probar el efecto hipoglucemiante agudo del extracto butanólico de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L en ratas neonatas con diabetes inducida por estreptozotocina (n-STZ).
- Probar el efecto hipoglucemiante agudo del extracto acuoso de la hoja de *Parathesis lenticellata* Lundell en ratas neonatas con diabetes inducida por estreptozotocina.

### Objetivos específicos del método fitoquímico

- Caracterizar por medio de Cromatografía en Placa Fina (CPF) los diferentes grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso y butanólico de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L.
- Caracterizar por medio de Cromatografía en Placa Fina (CPF) los diferentes grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Parathesis lenticellata* Lundell.
- Determinar por medio de la Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), el posible número de compuestos presentes en los extractos acuoso y butanólico de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L.
- Determinar por medio de la Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), el posible número de compuestos presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Parathesis lenticellata* Lundell.

## HIPÓTESIS

**Ho<sub>1</sub>:** La administración aguda del extracto acuoso (Ac) de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L a dosis de 23.3 mg/Kg. y 233 mg/Kg no ejercen efecto hipoglucemiante significativo en el biomodelo empleado.

**Ha<sub>1</sub>:** La administración aguda del extracto acuoso (Ac) de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L a dosis de 23.3 mg/Kg. y 233 mg/Kg ejercen efecto hipoglucemiante significativo en el modelo animal empleado

**Ho<sub>2</sub>:** La administración aguda del extracto butanolico (BuOH) de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L a dosis de 8 mg/Kg. y 80 mg/Kg no ejercen efecto hipoglucemiante significativo en el biomodelo empleado.

**Ha<sub>2</sub>:** La administración aguda del extracto butanolico (BuOH) de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L a dosis de 8 mg/Kg. y 80 mg/Kg ejercen efecto hipoglucemiante significativo en el modelo animal empleado.

**Ho<sub>3</sub>:** La administración aguda del extracto acuoso (Ac) de las hojas de *Parathesis lenticellata* Lundell a dosis de 93.3 mg/Kg no ejerce efecto hipoglucemiante significativo en el biomodelo empleado.

**Ha<sub>3</sub>:** La administración aguda del extracto acuoso (Ac) de las hojas de *Parathesis lenticellata* Lundell a dosis de 93.3 mg/Kg ejerce efecto hipoglucemiante significativo en el modelo animal empleado

## II. METODOLOGÍA

### 2.1. COLECTA DE MATERIAL VEGETAL

El material vegetal fue colectado por el Dr. Adolfo Andrade-Cetto y su grupo de trabajo del Laboratorio de Etnofarmacología durante los meses de Noviembre del 2003 y Diciembre del 2004 en Jalapa y Los Tuxtlas en el Estado de Veracruz, México. Después de realizada la colecta de los ejemplares botánicos, las estructuras, troncos en el caso de *T. hirsutissima* y hojas de *P. lenticellata* se secaron en la cámara de secado del laboratorio de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias UNAM, a una temperatura de 40°C por 48 hrs. Transcurrido el período de 48 horas se verificaron si no estaban dañados o contaminados y se procedieron a moler con ayuda de un molino marca Glen Creston Stanmore England, del Laboratorio de Microcosmo facilitado por la Dra. Pilar Ortega Larrocea del Instituto de Geología, UNAM.

### 2.2. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

#### A.Extractos Acuoso

Se prepararon las infusiones (extracto acuoso) de la corteza molida de *T. hirsutissima* y de las hojas molidas de *P. lenticellata* con base en la técnica reportada por Andrade-Cetto (2004) y modificada para uso del laboratorio, consistente en pesar 15 gr. de la parte de la planta molida y hervida en 300 ml de agua destilada durante 10 minutos, después de hervir se deja enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se filtra en tierra de diatomeas. Ya filtrada se procede a congelar la infusión en un ultra congelador REVCO a -70°C por 24 hrs. Transcurrido el tiempo de congelación las muestras se liofilizaron para la obtención del extracto en peso seco de cada planta y poder estandarizar la dosis a administrar.

## B. Extracto butanólico

El extracto butanólico (BuOH) y su fracción acuosa (AcBuOH) solamente se obtuvieron para *T. hirsutissima* de la colecta de diciembre del 2004 y fueron preparados en la Universidad de Bonn, Alemania por el Dr. Adolfo Andrade Cetto.

### 2.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Los extractos de *T. hirsutissima* utilizados para las pruebas fitoquímicas fueron: Extracto Acuoso (Ac), extracto butanólico (BuOH) y fracción acuosa del extracto butanólico (AcBuOH). Para *P. lenticellata* solo se utilizó el extracto acuoso (Ac).

#### a) Cromatografía en Placa Fina CPF

Se utilizaron placas de sílica gel 60 F<sub>254</sub> de 20 x 20cm (Laboratorios Merck). Tanto los extractos acuoso y butanólico de *T. hirsutissima* como el acuoso de *P. lenticellata* se analizaron en diferentes sistemas de elusión de acuerdo al grupo de metabolitos secundarios a identificar (Tabla 1).

Metabolitos Secundarios	Sistemas de Elusión	Revelador
Alcaloides	85:14:1 Diclorometano:Metanol:Hidróxido de amonio al 25%	Reactivo de Dragendorff
Grupos fenólicos	48:17:17:18 n-Butanol:n-Isopropanol:Ácido acético: Agua	Acido Difenil bourínico + UV
Terpenos	80:20 n-Hexano:Diclorometano	Vainillina + calor

**Tabla 1. Sistemas de Elusión y revelador de la CPF para la determinación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Tournefortia hirsutissima* L y *Parathesis lenticellata* Lundell**

Para la CPF se utilizan aproximadamente 100 ml del sistema de elusión en el interior de una cubeta cromatográfica. Las muestras de cada extracto se aplicaron en la base de las placas en el siguiente orden de izquierda a derecha extracto BuOH y Acuoso para *T. hirsutissima* L y en otra placa sólo el extracto Acuoso de *P. Lenticellata* Lundell. Las placas se colocaron en las cubetas las cuales permanecen cerradas durante el tiempo de corrimiento, hasta que alcancen aproximadamente tres cuartas partes en cada placa. Posteriormente se dejan secar para su revelado.

#### **b) Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC**

Se utilizó el HPLC para la identificación del número de compuestos presentes en los distintos extractos de *T. hirsutissima* y solo el acuoso para *P. Lenticellata* analizados en la cromatografía en placa fina.

Las condiciones que presentó el sistema para la identificación de los compuestos fueron las siguientes (Andrade, 2004):

**Columna:** NUCLEOSIL 100-5-C18, EC-250-4, **Fase móvil:** Acetonitril 15: Metanol 15: Buffer Acido Fosfórico 70. **Detector:** Luz Ultravioleta, **Tiempo:** 20 minutos

## **2.4. PRUEBAS FARMACOLÓGICAS**

#### **a) Animales de experimentación**

Se emplearon ratas Wistar (n-STZ) de ambos sexos, obtenidas del bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Se trabajó con individuos entre 250 a 300 gramos de peso corporal (n= 117; 54 ♀ y 63 ♂). Se ubicaron de 3 a 4 ratas por jaula experimental dentro de un cuarto en condiciones controladas a una temperatura de 23°C y 50% de humedad relativa y con un fotoperiodo de 12 horas. Los animales tuvieron libre acceso al alimento (Purina Ralston) y agua durante toda la fase experimental, a excepción de los días que se experimentaron en los que se requería de ayuno previo de 8 horas.

### **b) Inducción de Diabetes en ratas neonatas (n-STZ)**

Los animales neonatos de 5 días de nacidos fueron inyectados intraperitonealmente con estreptozotocina (n-STZ) (Sigma S-0130) a dosis de 90 mg/Kg, disuelta en buffer de citratos con pH de 4.3. Después de 8 semanas de inyectadas, se toma una muestra de glucosa sanguínea en ayuno previo de 5 a 8 horas, seleccionando a aquellos animales que presentan valores iguales o mayores a 140 mg/dL para ser considerados diabéticos.

### **c) Medición de la glucosa**

Todos los valores de glucemia obtenidos se determinaron utilizando dos glucómetros distintos, Accutrend GC (Roche) y ACCU-CHECK Sensor (Roche), con sus respectivas tiras reactivas.

La sangre fue colectada mediante un pequeño corte del callo ubicado en la punta de la cola para no dañar ni alterar al animal, pues en dicha zona no se ubican terminaciones nerviosas evitando de esta forma posibles estados de estrés.

### **d) Dosis de planta empleada**

Las dosis administradas a los animales se calcularon con base a los datos estandarizados para el laboratorio de etnofarmacología sobre pruebas realizadas con anterioridad.

Para el extracto Acuoso de *T. hirsutissima* se administraron dosis de 23.3 mg/kg por rata y para la comparación del efecto hipoglucemiante se elevó la dosis diez veces de su concentración original, es decir se administró una dosis de 233 mg/kg a cada rata. Los valores de dosificación para el extracto butanólico (BuOH) fueron de 8 mg/kg y 80 mg/kg respectivamente y de la fracción acuosa del extracto butanolico (AcBuOH) de 80 mg/kg para cada rata diabética (n-STZ).

En el caso de *P. lenticellata*, la dosis de administración del extracto acuoso fue de 93.33 mg/kg para cada rata diabética (n-STZ). Todas las dosis administradas fueron resuspendidas en 1.5 ml de solución salina 9%.

### e) Dosis de hipoglucemiante oral empleado

El hipoglucemiante oral estándar fue glibenclamida, sulfonilurea utilizada para disminuir la glucemia circulante entre los diabéticos (grupo control positivo).

La dosis de glibenclamida administrada se calculó en base a la proporción empleada en pacientes diabéticos humanos adultos resultando el valor de administración para nuestro modelo experimental de 3 mg/Kg.

### f) Grupos experimentales

Las ratas se dividieron aleatoriamente en 9 grupos experimentales (Tabla 2), cada uno formado por 13 ratas diabéticas (7 ♂ y 6 ♀). Estos grupos fueron tratados con las diferentes dosis de los extractos a estudio.

<i>Grupos de ratas (13 c/u)</i>	<i>Tratamiento</i>
<b>Grupo A ( Control No diabético "CND")</b>	Sol. Salina 9%
<b>Grupo B (Control diabético "CD")</b>	Sol. Salina 9%
<b>Grupo C (Control +)</b>	Glibenclamida 3 mg/Kg de peso.
<b>Grupo D</b>	Extracto acuoso de <i>Tournefortia hirsutissima</i> 23.3mg/Kg de peso.
<b>Grupo E</b>	Extracto acuoso de <i>Tournefortia hirsutissima</i> 233mg/Kg de peso
<b>Grupo F</b>	Fracción acuosa del extracto butanólico de <i>Tournefortia hirsutissima</i> 80mg/Kg peso
<b>Grupo G</b>	Extracto butanólico de <i>Tournefortia hirsutissima</i> 8mg/Kg de peso
<b>Grupo H</b>	Extracto butanólico de <i>Tournefortia hirsutissima</i> 80mg/Kg de peso
<b>Grupo I</b>	Extracto acuoso de <i>Parathesis lenticellata</i> 93.3mg/Kg de peso

**Tabla 2. Grupos de tratamientos farmacológicos empleados en la parte experimental.**



La administración de los extractos y de la solución salina a las ratas (grupos experimentales y grupos control) se hizo vía oral en una sola dosis (dosis aguda), a través de una cánula esofágica con la finalidad de asegurar que la ingesta entrara al tracto digestivo, esto después de haber sido mantenidas en un ayuno mínimo de ocho horas y máximo de diez horas.

Las determinaciones de glucosa sanguínea tanto en los grupos experimentales como en los controles fueron hechas antes de la aplicación de los extractos, dicho valor se tomó como  $T_0$ . Posteriormente se realizaron tres mediciones con diferencia de una hora ( $T_{60}$ ,  $T_{120}$  y  $T_{180}$ ). Los experimentos se iniciaron entre las 10 y 10:30 horas para todos los grupos experimentales después de haber expuesto a un periodo de ayuno previo a nuestras ratas diabéticas (n-STZ). (Martínez-Zurita, 2004).

## **2.5. ESTADISTICA**

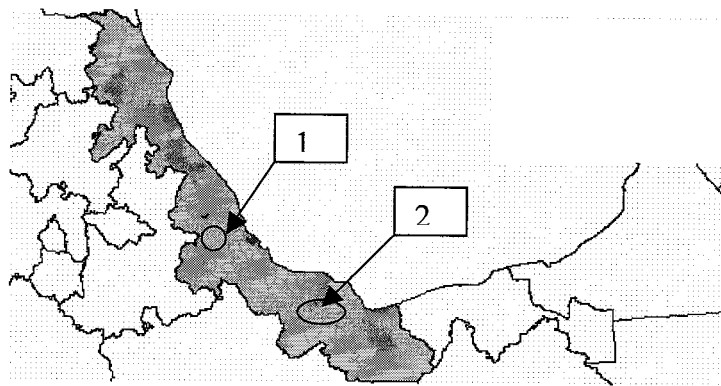
La prueba estadística empleada para el análisis de los datos fue ANOVA y posteriormente la prueba HSD de Tukey partiendo del supuesto de poblaciones normalmente distribuidas con una varianza igual y desconocida, los datos se consideraron significativos a partir de  $P \leq 0.05$ .

### III. RESULTADOS

#### 3.1. DATOS DE COLECTA:

1. *T. hirsutissima* fue colectada con el número 131 y datos de localización GPS 19°26'30"N y 96°44'20"W en noviembre 2003 y con el número 154 GPS 19°26'35"N y 96°44'57"W a 664 msnm durante diciembre del 2004 en Jalapa, Ver.

2. *P. lenticellata* se registro con los números de colecta 135 GPS 18°26'38"N y 93°13'18"W en noviembre del 2003 y el número de colecta 157 GPS 18°37'74"N y 95°01'97"W en diciembre del 2004 en huerto cercano a la Laguna de Sontecomapan en la zona de los Tuxtlas, Ver.



**Fig. 8 Localización geográfica de *Tournefortia hirsutissima* L. y *Parathesis lenticellata* Lundell en Veracruz, México.**

Los ejemplares fueron determinados por el Biol. Ramiro Cruz del Herbario de la Facultad de Ciencias y se depositaron con su respectivo voucher en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (cuyas siglas internacionales son IMSSM).

*T. hirsutissima* se registró con los números 15006 y 15008 en IMSSM y *P. lenticellata* se registró con los números 15012 y 15173 en IMSSM.

Del extracto Acuoso y liofilizado de *T. hirsutissima* se obtuvieron 1.410 g de peso seco final, el calculo de administración de la dosis a los animales se realizó con un peso promedio de 300g. Si tomamos en cuenta que una persona de 60 Kg. necesita 1.410 grs. del extracto, la proporción para 300 g es de 7 mg de extracto liofilizado resuspendidos en 1.5 ml de solución fisiológica al 9%, esto da una dosis equivalente de administración de 23.3 mg/Kg peso.

Del extracto Acuoso y liofilizado de *P. lenticellata* se obtuvieron 5.74 g. de peso seco y sus valores de administración fueron 29 mg en proporción a la aplicación del peso de las ratas de 300 g. promedio, estandarizándose a 93.33 mg/Kg. Por las características que presento la planta al hervir se forma una mezcla bastante hidratada que no pudo ser filtrada por tierra de diatomea, por lo que solo se coló con coladera normal.

En el caso del extracto butanólico (BuOH) de *T. hirsutissima* del extracto liofilizado se obtuvo un peso seco final de 2.83 g. y a cada rata se le administraron 2 mg de extracto; es decir, equivalentes a una dosis de 8 mg/ Kg. También se contó con la fracción acuosa del extracto butanólico (AcBuOH) y el valor de administración fue de 24 mg de extracto, equivalente a 80 mg/Kg peso rata.

Como dato de referencia botánica, el tronco de *Tournefortia hirsutissima* L presenta un dibujo en forma de trébol en el xilema secundario, ya que en algunos casos se confunde el tronco y la forma de la hoja con otra especie no relacionada con esta boraginacea.

### 3.2. FITOQUÍMICA

#### Cromatografía en placa fina CPF

De los resultados obtenidos para los extractos de la corteza de *T. hirsutissima* se identificó la presencia de grupos fenólicos y en el caso del extracto de las hojas de *P. lenticellata* se manifestó con el revelador vainillina la presencia de terpenos, estos datos se reportan a continuación (Tabla 3). Se consideró como valor positivo la presencia del metabolito secundario por lo menos en una franja en la placa cromatográfica expuesta al revelador correspondiente.

Metabolitos Secundarios	<i>T. hirsutissima</i> Ac	<i>T. hirsutissima</i> BuOH	<i>P. lenticellata</i> Ac
Alcaloides	(-)	(-)	(-)
Fenoles	(+)	(+)	(-)
Terpenos	(-)	(-)	(+)

Tabla 3. Presencia de metabolitos secundarios para *Tournefortia hirsutissima* L. y *Parathesis lenticellata* Lundell en CPF

\*Simbología (-) no detectable, (+) poco o escaso, (++) moderado, (+++) abundante.

## Cromatografía Líquida de Alta presión HPLC

Se obtuvieron los cromatogramas del HPLC para *T. hirsutissima* y *P. lenticellata* (Fig. 9 y 10) a 220 nm; en ellos se aprecian 5 picos de absorbancia asociados con los compuestos presentes en los extractos probados.

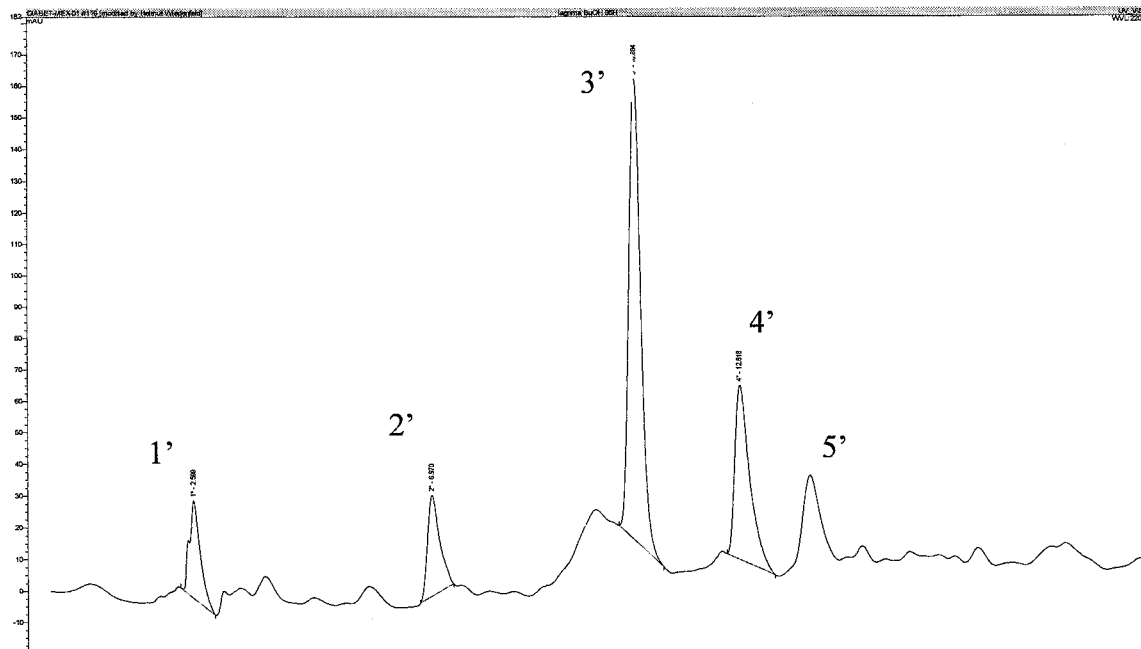


Figura 9. Cromatografía HPLC para los Extractos Ac y BuOH de *Tournefortia hirsutissima* L

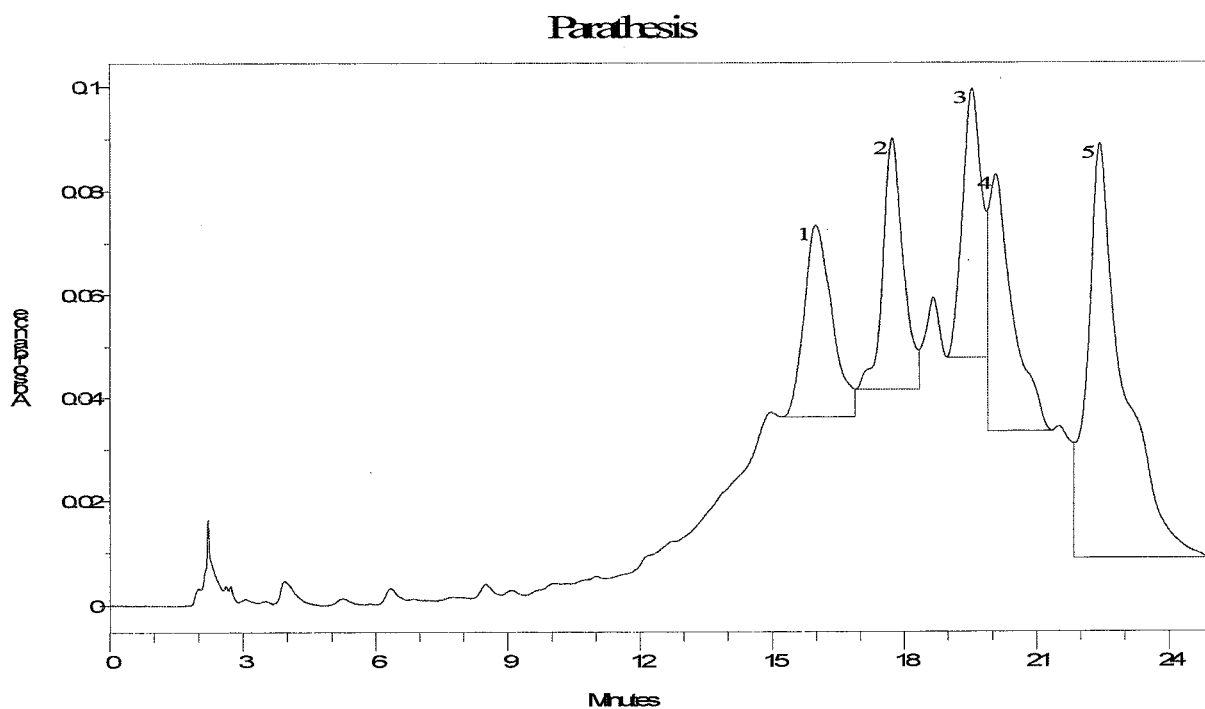


Figura 10. Cromatograma del Extracto Acuoso de *Parathesis lenticellata* Lundell en HPLC

### 3.3. PRUEBAS FARMACOLÓGICAS

De los valores medios de glucosa obtenidos de 117 ratas experimentales se elaboró la siguiente tabla para las aplicaciones de los distintos tratamientos farmacológicos administrados durante tres horas en forma aguda (Tabla 4).

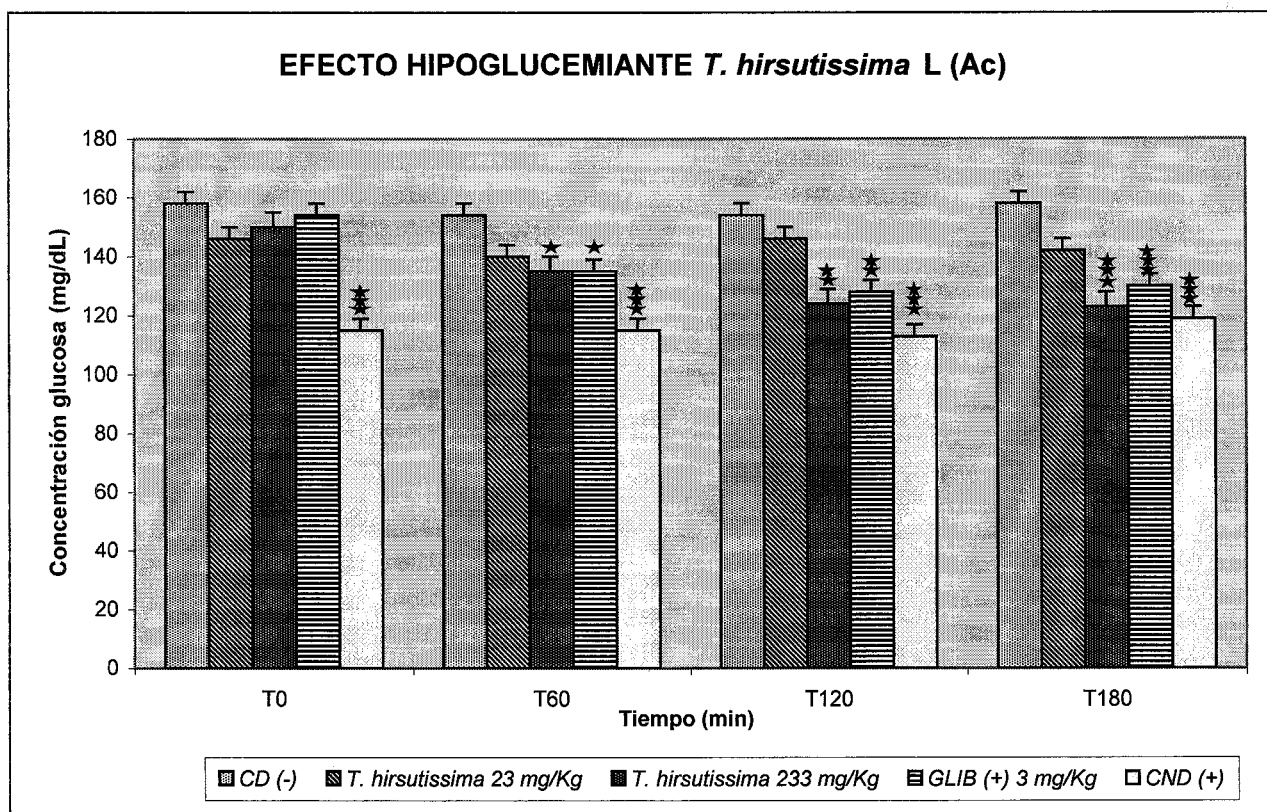
Tratamientos	Niveles de Glucosa Sanguínea (mg/dL) +/- error estándar			
	T <sub>0</sub>	T <sub>60</sub>	T <sub>120</sub>	T <sub>180</sub>
Control (+) "CND" (Sol. Fisiológica)	115 ± 4 <sup>c</sup>	115 ± 7 <sup>c</sup>	113 ± 3 <sup>c</sup>	119 ± 4 <sup>c</sup>
Control (-) "CD" (Sol. Fisiológica)	158 ± 7	154 ± 7	154 ± 8	158 ± 7
Glibenclamida (+) (3 mg/Kg de peso)	154 ± 4	135 ± 5 <sup>b</sup> <sup>1</sup>	128 ± 4 <sup>c</sup> <sup>2</sup>	130 ± 4 <sup>c</sup> <sup>3</sup>
<i>T. hirsutissima</i> L Ac (23.3 mg/Kg de peso)	146 ± 4	140 ± 4	146 ± 3	142 ± 5
<i>T. hirsutissima</i> L Ac (233 mg/Kg de peso)	150 ± 2	135 ± 5 <sup>a</sup> <sup>1</sup>	124 ± 6 <sup>c</sup> <sup>2</sup>	123 ± 7 <sup>c</sup> <sup>3</sup>
<i>T. hirsutissima</i> L (Ac BuOH) (80 mg/Kg de peso)	155 ± 4	152 ± 7	145 ± 7	133 ± 9 <sup>a</sup> <sup>1</sup>
<i>T. hirsutissima</i> L (BuOH) (8 mg/Kg de peso)	152 ± 5	149 ± 6	144 ± 5	140 ± 5
<i>T. hirsutissima</i> L (BuOH) (80 mg/Kg de peso)	150 ± 4	136 ± 4 <sup>a</sup> <sup>1</sup>	135 ± 3 <sup>b</sup> <sup>1</sup>	137 ± 3 <sup>a</sup> <sup>1</sup>
<i>P. lenticellata</i> Lundell Ac (93.3mg/Kg de peso)	153 ± 3	146 ± 2	150 ± 5	137 ± 6 <sup>a</sup> <sup>1</sup>

Tabla 4. Valores medios de glucosa con desviación estándar para cada uno de los tratamientos administrados Vs el tiempo.

**Superíndices:** número "1" dentro de la misma columna indica diferencia significativa P ≤ 0.05, número "2" diferencia significativa P ≤ 0.01 y número "3" diferencia significativa P ≤ 0.001 respecto al control diabético (-).

**Subíndices:** letra "a" dentro de la misma fila, indican diferencia significativa P ≤ 0.05, letra "b" diferencia significativa P ≤ 0.01 y letra "c" diferencia significativa P ≤ 0.001 respecto al T<sub>0</sub>

De los resultados obtenidos de la Tabla 4 se presentan a continuación las gráficas comparativas de los extractos empleados durante el efecto agudo de tres horas de administración en el biomodelo de rata neonata diabética (n-STZ).



**Fig. 11. Comparación gráfica del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Tournefortia hirsuttisima* L con relación al control diabético y glibenclamida.**

\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$  \*\*\*  $P \leq 0.001$

En la Figura 11 se aprecia una disminución significativa de los niveles de glucosa al administrar el extracto acuoso de *T. hirsutissima* a dosis de 233 mg/Kg y de glibenclamida (fármaco de referencia) respecto a nuestro control diabético.

referencia como fueron glibenclamida y un control diabético nos dio en el análisis estadístico valores comparables con diferencia significativa de  $P \leq 0.001$  de confiabilidad para el diseño experimental.

Al analizar individualmente los extractos de cada planta, se demuestra que el extracto acuoso de *T. hirsutissima* a dosis de 233 mg/Kg tiene mejores resultados sobre el efecto hipoglucemiante que sus extractos butanolicos o que el mismo extracto acuoso de *P. lenticellata*, es posible que los metabolitos secundarios presentes en *T. hirsutissima* tengan mejor acción farmacológica al ser extraídos por medio de una infusión simple liofilizada y esta forma sea de mejor asimilación para el modelo diabético empleado, facilitando rápidamente la disminución de glucosa circulante, resulta interesante al comparar la efectividad del extracto con la sulfonilurea de referencia se presenta un comportamiento muy similar para el efecto hipoglucemiante desde la primera hora (Fig. 11).

Los resultados fitoquímicos obtenidos en la Cromatografía de Placa Fina (CPF) para *T. hirsutissima* revelaron la presencia de compuestos fenólicos tanto en el extracto acuoso como en el butanólico. Debido a que este grupo de metabolitos secundarios tiene diferentes estructuras químicas es conveniente realizar su determinación fitoquímica por algún método más específico para elucidar su acción metabólica directa.

En *P. Lenticellata* el cromatograma por placa fina (CPF) determinó presencia de terpenos, grupo de metabolitos secundarios que también han sido reportados con actividad hipoglucemiante. Como la acción farmacológica de los terpenos es muy variada sobre los organismos es conveniente determinar cual grupo está presente para poder establecer la efectividad real de nuestro extracto, esto se sugiere debido a que durante el diseño experimental *P. Lenticellata* tendía a mantenerse o incluso incrementar los niveles de glucosa después de la administración del extracto en nuestro modelo. A pesar de que los resultados nos indican que el extracto acuoso de *P. Lenticellata* presenta efecto hipoglucemiante significativo se requiere de la realización de más ensayos farmacológicos de tipo crónico para determinar mejor el mecanismo de acción de los metabolitos presentes en el extracto.



En el análisis por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) para los extractos probados farmacológicamente de ambas plantas, se determinó la presencia de 5 compuestos con actividad química para cada planta. En el caso de *T. hirsutissima* tanto el extracto acuoso como el butanólico presentaron los mismos compuestos (5) de acuerdo a su tiempo de retención asociados a los picos de absorbancia a la longitud de onda de 220 nm, aunque la definición de los picos se da mejor en el extracto acuoso esto puede deberse a que durante el fraccionamiento para la elaboración del extracto butanólico se pierde cierta concentración de los compuestos iniciales presentes en el extracto acuoso y esta diferencia en la concentración sea lo que influya directamente en la acción farmacológica desde la primera hora de administración en relación a los valores de diferencia significativa reportadas en las Fig. 11 y 12. Asimismo *P. lenticellata* también presentó 5 compuestos, en este caso consideramos conveniente preparar el extracto butanólico para comprobar si son los mismos compuestos los que se presentan en el acuoso y en el butanólico o bien usar otro esquema de extracción para descartar la posibilidad de que se pierdan o cambien durante el proceso de fraccionamiento para la elaboración del extracto.

Los valores de disminución en porcentaje entre los diferentes tratamientos sobre nuestras ratas diabética (n-STZ) indican que el extracto acuoso (Ac) de *T. hirsutissima* a dosis única de 23.3 mg/kg es de 10.1% mientras que el más eficaz es a la dosis de 233 mg/Kg con una disminución de 22.2% sobre los valores hiperglucémicos promedio de nuestro control diabético (CD), mientras que glibenclamida (control +) presenta una disminución del 17.7% al transcurrir las tres horas de administrado nuestro tratamiento (efecto agudo) (Fig.14).

De los resultados obtenidos podemos afirmar que el uso tradicional que se le ha venido dando a la corteza de *T. hirsutissima* (Lágrima de San Pedro) en el Estado de Veracruz es válido y que la administración como infusión permite una mejor administración de los posibles compuestos que inician el efecto hipoglucémico para el tratamiento de la Diabetes Tipo 2. Sin embargo, proponemos continuar con más estudios de tipo crónico para determinar si no se

presentan efectos secundarios con el consumo de los extractos de la planta y quizás en un futuro incorporarlo al esquema de los fitomedicamentos.

En el caso de *P. lenticellata* (Chagalapoli) las pruebas aún no son completamente concluyentes por lo que se sugieren más pruebas farmacológicas y fitoquímicas.

El género *Tournefortia sp*, se encuentra bien identificado como una planta medicinal con potencial farmacológico, situación que respaldan otros géneros de la familia de las Boraginaceas.

El género *Parathesis sp* es muy reducido y quizá con características muy localizadas, de ser posibles más estudios podría generar más información sobre la planta, ya que la familia Myrsinaceae es muy poco reportada en la literatura botánica, así contribuir al conocimiento etnofarmacológico y demostrar su efectividad como planta hipoglucemiante.

El modelo de ratas diabéticas (n-STZ) resulta adecuado para la estandarización de los valores de glucemia en relación a la enfermedad humana. En nuestro estudio en particular, los valores promediaron entre los 140 y 150 mg/dL de glucosa para los ejemplares diabéticos y los no diabéticos tuvieron un promedio de glucemia de 115 mg/dL ligeramente arriba del rango propuesto para los humanos como valores normoglucemicos, por lo que constituye un buen modelo de trabajo a nivel experimental.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a nuestro análisis se comprueban las Hipótesis alternativas y se concluye lo siguiente:

- El extracto acuoso de la corteza de *Tournefortia hirsutissima* L administrada en una dosis única de 233 mg/Kg ejerce efecto hipoglucemiante sobre nuestro modelo diabético (n-STZ) desde la primera hora de administración.

- El extracto acuoso de las hojas de *Parathesis lenticellata* Lundell a dosis única de 93.3 mg/Kg ejerce efecto hipoglucemiante después de tres horas de administrada, se proponen más estudios experimentales de tipo crónico para corroborar si no es solo un ajuste metabólico temporal y efectivamente pueda ser una planta medicinal que ayude en los tratamientos hipoglucemicos para la Diabetes Tipo 2.

- El modelo experimental con rata Wistar neonata (n-STZ) resulta adecuado para la estandarización de las pruebas de disminución de glucemia.

## VI. LITERATURA CITADA

ADA, 1997. Página de la red de la American Diabetes Association, consultada el 20 julio de 2005 ([www.diabetes.org](http://www.diabetes.org)).

Alarcón-Aguilar, F.J., Roman-Ramos, R., Pérez-Gutiérrez, S., Aguilar-Contreras, A., Contreras-Weber, C.C., y Flores-Saenz, J. L., 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61, 101-110.

Andrade-Cetto, A. y Heinrich, M., 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 325-348.

----- y Wiedenfeld, H., 2004. Hypoglycemic effect of *Acosmium panamense* bark on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 90, 217-220.

Arulmozhi, D.K., Veeranjanyulu, V. y Bodhankar, S.L., 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian Journal Pharmacology* 36(4), 217-221.

Atlas of Florida Vascular Plants, 2005. Pagina en la red consultada el 20 de febrero de 2005 ([www.plantatlas.usf.edu](http://www.plantatlas.usf.edu))

Bonner-Weir, S., Trent, D.F., Honey, R.N., y Weir, G.C., 1981. Responses of Neonatal Rat Islets to Strptozotocin. Limited B-Cell Regeneration and Hyperglycemia. *Diabetes* 30, 64-69

Campos-Villanueva, A., Nelly, L., y Delgado-Salinas, A., 2004. Bejucos y otras trepadoras de la estación de biología tropical Los Tuxtla, Veracruz, México. *Cuadernos del Instituto de Biología* 36, 60-62.

CONAPO, 2002. Pagina en la red de la Secretaria de Gobernación de la República Mexicana, consultada el 20 de abril de 2006. ([www.conapo.gob.mx](http://www.conapo.gob.mx))

Etkin, N.L, y Elisabetsky, E., 2005. Seeking a trnasdisciplinary and culturally germane science: The future of ethnopharmacology. *Journal off Ethnopharmacology* 100, 23-26.

FMD, 2006. Pagina en la red de la Federación Mexicana de Diabetes, A.C., consultada el 30 de septiembre de 2006. ([www.fmdiabetes.com](http://www.fmdiabetes.com))

Gabriel Suárez, M., 2002. Actividad hipoglucemiante de *Tournefortia hirsutissima*. Tesis de Lic. Biología. FES Iztacala, UNAM: 43 pp.

Garrido Pertierra, A., Teijón Rivera, J.M., Blanco Gaitán, D., Villaverde Gutiérrez, C., Mendoza Oltras, C. Y Ramírez Rodrigo, J., 2005 Fundamentos de bioquímica metabólica. Ed. Alfaomega. México, 54-251.

Godman & Gilman. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª. Ed. Vol. II, McGraw-Hill Interamericana. México.

Guthrie, D. y Guthrie, R., 2000. Alternative and complementary diabetes care. How to combine natural and tradicional therapies. John Wiley & Sons. In New York, 183-217.

Heinrich, M., y Gibbons, S., 2001. Ethnopharmacology in drug discovery: an análisis of its role and potencial contributions. Journal of Pharmacy and Pharmacology: 53, 425-432.

Hernández-Jiménez, S., Aguilar-Salinas, C.A., y Gómez-Pérez, F.J., 2002. Tiazolidinedionas. Beneficios y riesgos reales. Revista Endocrinología y Nutrición 10 (2), 69-76.

Hersch Martínez, P., 1999. De hierbas y herbolarios en el México actual. Revista Arqueología Mexicana 7(39), 60-65.

Hitman, G. A., 1999. Type 2 Diabetes. Prediction and Prevention. John Wiley & Sons. New York.

Holmstedt, B. y Bruhn, J., 1983. Ethnopharmacology.- A Challenge. Journal of Ethnopharmacology 8, 251-256.

Hugues Hernandorena, 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. Rev. Cubana Endocrinol 13 (2), 160-168.

Islas Andrade, S. y Lifshitz, G., 2001. Diabetes Mellitus. 2ª. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. México, 3-14.

Itamar, R., Skyler, J.S. y Shafir, E., 2003. Diabetes: From Research to Diagnosis and Treatment. Ed. Martín Dunita. London, 409-555.

Lei Li, Zhaohong Yi, Masaharu Seno y Itaru Kojima, 2004. Activin A and Betacellulin. Effect on Regeneration of Pancreatic B-Cells in Neonatal Streptozotocin-Treated Rats. Diabetes 53, 608-615.

Lerman Garber, I., Aguilar-Salinas, C.A., Gómez-Pérez, F.J., Reza Albarrán, A., Hernández Jiménez, S., Vázquez Chávez, C. y Rull, J.A., 2004. El síndrome metabólico. Características del síndrome metabólico en México. Revista Endocrinología y Nutrición 12 (3), 109-122.

LeRoith, D., Taylor, S.I. y Olefsky, J., 2003. Diabetes Mellitus. Fundamentos y clínica. 2ª. Ed. McGraw Hill. México: 760 –1055.

Lozoya, X., 1994. Two decades of Mexican ethnobotany and research in plant drugs. Ciba Foundation Symposium . John Wiley & Sons. Toronto, 130-140.

Lozoya, X., 1999. Numeralia. Rev. Arqueología Mexicana 7(39), 54-59.

Mancillas Adame, L.G, Gómez Pérez, F.J. y Rull Rodrigo, J.A., 2002. Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus, conceptos actuales. Revista Endocrinología y Nutrición 10 (2), 63-68.

Manuchar, E., 2002. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. CRC. Press NY 447-456.

Martínez Zurita, E. C., 2004. Efecto hipoglucemiante de *Malmea depressa* (Baillon), R.E. Fries. Tesis Lic. Biología. Fac. Ciencias, UNAM: 60 pp

MBG, 2005. Página de la red del Missouri Botanical Garden, consultada el 14 de febrero de 2005. ([www.mobot.org](http://www.mobot.org))

Membreño Mann, J.P. y Zonana, Z.A., 2005. Hospitalización de pacientes con diabetes mellitus. Causas, complicaciones y mortalidad. Rev. Med. IMSS 43 (2), 97-101.

Packer, L., Rösen, P., 2000. Antioxidants in diabetes management. Marcel Dekker, Inc. New York.

Portha, B., Giroix, J.M., Serradas, I.P., Movassat, J., Balbe I.D. y Kergoat, M., 2002. The neonatally streptozotocin induce (n-STZ) diabetic rats a family of NIDD models: In. A. F. Anders and S. Eleazar, (Eds). Animal Models of Diabetes. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 247- 272.

Rivera Arce, E., 1999. Investigación reciente sobre plantas medicinales mexicanas. Rev. Arqueología Mexicana 7(39), 54-59.

SAM Diabetes, 2005. Sistema de Actualización Médica en Diabetes. 4 Unidades de Estudio. Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, A.C. Editores Intersistemas. México: 322 pp

SSA, 2006. Pagina en la red de la Secretaria de Salubridad, Gobierno de México, consultada el 3 de septiembre de 2006. ([www.salud.gob.mx](http://www.salud.gob.mx))

Schultes, O., 1991. Historical perspective and future of ethnopharmacology. Journal of Ethnopharmacology 32, 7-24.

Wild, S., 2004. Global prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 27 (5), 1047-1053.

WHO, 2005, Página en la red de la World Health Organization, consultada el 19 de mayo del 2005. ([www.who.org](http://www.who.org))

WHO, 1999. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. WHO/NCD/NCS/99.2, 1-59.

Yun-Lian Lin, Yu-Ling Tsai, Yueh-Hsiung Kuo, Yi-Hung Liu, y Ming-Shi, Shiao, 1999. Phenolic Compounds from *Tournefortia sarmentosa*. J. Nat. Prod. 62, 1500-1503.

-----, 2002. Anti-lipid-peroxidative principles from *Tournefortia sarmentosa*. J. Nat. Prod. 65, 745-747.