



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

---

**USO DE PLANTAS CON EFECTO HIPOGLUCEMIANTE**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :  
Q U Í M I C A D E A L I M E N T O S  
P R E S E N T A  
B E R T H A B R A V O V A R G A S



Ciudad universitaria, Méx., septiembre 2011



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.

Jurado asignado:

Presidente: Dr. Pedro Valle Vega  
Vocal: M en C. Lucía Cornejo Barrera  
Secretario: M en C. Argelia Sánchez Chinchillas  
1er. Suplente: M en C. Karla Mercedes Díaz Gutiérrez  
2do. Suplente: Dra. Liliana Rocío González Osnaya

Sitio en donde se desarrolló el tema:

- **Biblioteca de la Facultad de Química de la Universidad Nacional autónoma de México**
- **Biblioteca de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional autónoma de México**
- **Hemeroteca de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México**

---

Lucía Cornejo Barrera  
Asesora del Tema

---

Bertha Bravo Vargas  
Sustentante

A mi alma mater. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

Y mi gratitud al Colegio de Ciencias Y Humanidades, plantel Vallejo y la Facultad de Química, por ser los recintos que me formaron como profesionista y como persona.

A mi profesora asesora, M. en C. Lucia Cornejo Barrera, por su apoyo, amistad y motivación para concluir este trabajo

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO.....</b>	<b>3</b>
<b>3. DESARROLLO DEL TRABAJO.....</b>	<b>4</b>
3.1. Diabetes mellitus Tipo II.....	4
3.1.1. Hiperglucémia.....	6
3.1.2. Hipoglucémia.....	7
3.1.3. Manifestaciones clínicas.....	7
3.2. Epidemiología.....	9
3.2.1. Magnitud de la diabetes Tipo II.....	9
3.2.2. Panorama epidemiológico.....	10
3.3. Terapéutica de la diabetes mellitus tipo II.....	11
3.4. Páncreas.....	13
3.4.1. Insulina.....	13
3.5. Metabolismo de los Hidratos de Carbono.....	15
3.5.1. Glucólisis.....	16
3.5.2. Gluconeogénesis.....	19
3.5.3. Metabolismo del glucogéno.....	23
3.5.4. Glucémia.....	23
3.5.5. Índice glucémico.....	24
<b>4. MEDICINA TRADICIONAL.....</b>	<b>25</b>
4.1 Principales compuestos y posibles mecanismos de acción de las plantas hipoglucemiantes.....	28
4.1.1. Polisacáridos.....	28
4.1.2. Fibra dietética.....	28
4.2. Antioxidantes.....	35
4.3. Inhibición de la gluconeogénesis.....	58
4.4. Inhibidores de $\alpha$ -glucosidasa.....	70
4.5. Efecto de la liberación de insulina.....	80
4.6. Efecto de la estimulación del canal de salida de la glucosa.....	88
4.7. Plantas con efecto hipoglucémico que no han sido estudiados sus mecanismos de acción.....	89
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>90</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>92</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

México cuenta con una gran tradición en el uso de plantas medicinales para tratar diversas enfermedades, incluida la diabetes mellitus tipo II, para la que se cuenta con un gran número de remedios tradicionales. Sin embargo, para tener un mejor aprovechamiento de estas plantas es necesario realizar investigaciones con las que se asegure que los compuestos presentes en la planta son los responsables del efecto y que éstos no presentan toxicidad en las concentraciones a las que se recomienda tomarlos.

Por otra parte se han realizado estudios *in-vivo* e *in-vitro* a una gran variedad de plantas con efecto hipoglucémico de las que se han aislado una serie de compuestos que se presume son los responsables de su actividad, pero no basta con saber su efecto sino que, también es necesario saber el mecanismo por el cuál se obtiene dicho efecto.

Hasta ahora se han descubierto varios mecanismos por los cuales los compuestos activos de las plantas ejercen efecto hipoglucémico, por ejemplo la fibra evita la absorción intestinal de la glucosa acelerando el tránsito del bolo alimenticio, impidiendo así la circulación al torrente sanguíneo; los antioxidantes también juegan un papel importante en la enfermedad, pues éstos reducen la formación de especies reactivas de oxígeno que, son los causantes del estrés oxidativo y de dañar a las células beta del páncreas; otros actúan inhibiendo la actividad enzimática, como la actividad de la glucosa-6-fosfatasa necesaria en la gluconeogénesis y de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa responsable de la hidrólisis de los hidratos de carbono en monosacáridos, evitando de esta manera que sean absorbidos desde el lumen intestinal al torrente sanguíneo; otros promueven la liberación de insulina de las células beta del páncreas actuando de forma similar a los fármacos estándar y por último los que inducen el canal de salida de la glucosa de los adipocitos en la resistencia o no de la insulina.

En algunas de las investigaciones realizadas se ha observado que algunas de estas plantas ejercen más de un mecanismo hipoglucémico mostrando un efecto más significativo. En este trabajo se describirá de una manera sencilla, algunas plantas usadas e nivel nacional e internacional, así como los mecanismos de algunos de sus componentes que presentan un efecto hipoglucemico.

## **2. OBJETIVO GENERAL:**

Recopilar la información del uso de plantas medicinales con efecto hipoglucémico utilizadas por pacientes con diabetes mellitus tipo II, para dar a conocer las plantas que se han estudiado sus principales compuestos y sus posibles mecanismos de acción.

## PRIMERA PARTE

### 3. DESARROLLO DEL TRABAJO

#### 3.1. Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que aparece como consecuencia de la deficiencia absoluta o relativa de insulina, debido a alteraciones de su síntesis, secreción o función. La deficiencia de insulina da lugar a alteraciones del metabolismo glucídico, lipídico, proteico e hidromineral. Esta enfermedad es la primera causa de muerte en México, y se caracteriza por alteraciones metabólicas y complicaciones a largo plazo que afectan a los ojos, riñones, nervios y vasos sanguíneos. (Harrison, 1998)

#### **Tipos de diabetes y etiopatogenia**

El origen de la diabetes mellitus es multifactorial, no parece existir duda de que la enfermedad se ve favorecida por diversos factores genéticos y su aparición en un alto porcentaje de los casos depende de causas ambientales. En este sentido, la diabetes se clasifica en:

**Diabetes tipo 1:** Antiguamente conocida como diabetes dependiente de insulina presenta un inicio súbito con signos y síntomas de hiperglucemia. Aparece casi siempre antes de los 30 años en individuos que por lo general no son obesos; son personas insulino-pénicas, que por esa característica son susceptibles a la cetosis y requieren de insulina.

Se considera que hay dos variantes de diabetes tipo 1, una de ellas mediada por mecanismos autoinmunes, en la que existe destrucción de las células beta del páncreas y que tiene como marcadores serológicos anticuerpos contra estas células y contra las fosfatasas de tirosina y la descarboxilasa del ácido glutámico;

además, incluye una fuerte asociación con antígenos de histocompatibilidad. La otra forma es idiopática, no tienen evidencia de autoinmunidad y es muy común en algunas poblaciones asiáticas y africanas. (Casanueva, 2004)

**Diabetes tipo II:** Ésta, por lo general se presenta en personas de más de 30 años de edad, casi siempre obesas, con pocos síntomas y que no son propensas a la cetoacidosis, excepto cuando la diabetes coincide con otras enfermedades agudas. Su complicación más común es el estado hiperosmolar. Aun cuando no son dependientes de la insulina, estos pacientes pueden necesitar esta hormona pancreática para un control adecuado de la hiperglucemia.

Se ha observado que la combinación de factores ambientales, como los malos hábitos de alimentación, la falta de ejercicio y la tensión emocional, desencadenan este tipo de afección.

- En la fisiopatología de la diabetes tipo II se han encontrado tres alteraciones principales:
- La secreción de la insulina.
- La captación celular de glucosa en músculo y tejido adiposo (resistencia a la insulina).
- El aumento en la producción hepática de glucosa.

Actualmente se considera que el mecanismo inicial es la resistencia periférica a la acción de la insulina (incapacidad de las células para acoplar la insulina y que ésta cumpla con su función de transporte de glucosa), misma que se hereda y está presente desde la gestación. En este periodo los niveles de insulina son normales; sin embargo, con el paso del tiempo se incrementan para mantener las cifras de glucosa dentro de los límites normales, hasta que llega un momento en que las células beta del páncreas no producen suficiente cantidad de la hormona para compensar el estado de resistencia a la insulina, por lo que se presenta la

hiperglucemia. Por lo tanto, las concentraciones sanguíneas de insulina en el momento del diagnóstico son normales o elevadas. (Casanueva, 2004)

**Diabetes gestacional:** (Diabetes mellitus tipo II): aparece en 2 % a 5 % de las mujeres embarazadas durante el tercer trimestre de embarazo, generalmente esta asociada la obesidad. Este tipo de diabetes puede traer problemas al recién nacido como la macrosomía que es una enfermedad que se caracteriza por exceso de peso, y se debe principalmente al almacenamiento del exceso de energía en forma de grasa, dicho exceso de energía se transfirió al bebé por medio del torrente sanguíneo durante el embarazo. La macrosomía puede traer consigo otro tipo de complicaciones como problemas respiratorios, obesidad y la misma diabetes tipo II (Zurita, 2004).

**Tabla 1 CARACTERÍSTICAS DE LAS DIABETES TIPO I Y TIPO II**

	<b>Tipo I</b>	<b>Tipo II</b>
Edad inicio	Más a menudo en lactancia pero puede ocurrir en edad adulta	Después de 40 años, puede ocurrir en niños
Conformación corporal	De normal a sobrepeso	Por lo regular obesa
Síntomas	Polidipsia, polifagia y poliuria	Puede ser sintomática o asintomática
Etiología	Genética, viral, autoinmune	Obesidad, genética, receptores de insulina
Insulina plasmática	De baja a inexistente	De normal a alta
Glucagón plasmático	Alto, se puede suprimir	Alto
Complicación aguda	Cetoacidosis	Coma hiperosmolar
Tratamiento con insulina	Esencial	Algunos la requieren

(Buitrago, 1998)

### **3.1.1. Hiperglucemia**

La hiperglucemia es una característica de la diabetes y, es considerada así, cuando la concentración de glucosa en la sangre es mayor a 140 mg/dL. Por desgracia, algunos pacientes no presentan síntomas pese a tener la glucosa muy elevada hasta 800 mg/dL, lo que los coloca en peligro de un coma hiperosmolar. (Casanueva, 2004)

### **3.1.2. Hipoglucemia**

El síndrome hipoglucémico aparece cuando la concentración plasmática de glucosa cae por debajo de 45 mg/dL, lo que conduce a una situación gravísima de coma. Aunque la etiología de la enfermedad es diversa, las concentraciones de glucosa descienden en todos los casos como consecuencia de un desequilibrio entre la utilización de glucosa por los tejidos (hígado, cerebro, músculo, tejido adiposo y otros tejidos) y su liberación al plasma (glucogenólisis, gluconeogénesis y absorción intestinal de glucosa). (Buitrago, 1998)

Este descenso de la glucosa en sangre puede ser debido a varias causas, entre las que destacan:

- Sobredosis de insulina o de hipoglucemiantes orales.
- Errores en la dieta (omitir una comida, no ingerir la ración glucídica prevista, etc.).
- Consumo de alcohol.
- Un exceso de actividad física sin haber tomado un suplemento de glúcidos, o bien sin haber disminuido la insulina.
- Aparición de una situación de estrés.
- Vómitos o diarreas abundantes.

Cuando se produce una hipoglucemia entran en funcionamiento los mecanismos de compensación: adrenalina, glucagón, cortisona y la hormona de crecimiento: todas ellas son hormonas hiperglucemiantes. (Cervera, 1994)

### **3.1.3 Manifestaciones clínicas**

Esta sintomatología, clásica de la diabetes, no siempre está presente, sobre todo en la diabetes tipo II, en la que la elevación de la glucemia a menudo no es excesiva, por lo que no aparecen dichos síntomas.

**a) Poliuria (aumento de la cantidad de orina).** La falta total o parcial de insulina produce una elevación de la glucemia. Cuando esta cifra es superior a 1.80 g/L hay eliminación urinaria de glucosa, apareciendo **glucosuria** (glucosa en orina). El riñón actúa como válvula de seguridad que intenta evitar la alta osmolaridad de la **hiperglucemia**. Para eliminar esta glucosa necesita gran cantidad de agua, por lo que se produce la poliuria.

**b) Polidipsia (aumento de la sed).** Ante la gran pérdida de agua que sufre el organismo debido a la poliuria, hay un mecanismo de reacción para evitar la deshidratación, apareciendo la polidipsia.

**c) Polifagia (aumento del apetito).** Siempre debido a la falta de insulina, la glucosa no se aprovecha debidamente y el organismo, para compensar esta falta de energía, aumenta la necesidad de comer. Aparece la sensación de apetito desmesurado.

**d) Astenia (fatiga intensa).** Junto a la pérdida de líquido provocada por la glucosuria hay también una pérdida importante de electrolitos que contribuye a la astenia.

**e) Adelgazamiento.** El adelgazamiento se produce por la pérdida de energía y la deshidratación. A veces puede ser muy exagerado.

Si no se instaura un tratamiento adecuado frente a todos estos trastornos, el enfermo puede llegar a la cetoacidosis y al coma diabético. (Cervera, 1994)

## **3.2. Epidemiología**

La diabetes es una enfermedad que aqueja a todos los países del mundo, causando una gran cantidad de decesos principalmente en aquellos países del tercer mundo y los que están en vías de desarrollo.

Actualmente se estima que existen 230 millones de diabéticos alrededor del mundo y que para el año 2025 esta cifra aumentara a 333 millones de diabéticos en el mundo.

Los países con mayor incidencia de diabetes son en primer lugar la India con cerca de 35 millones, Estados Unidos y Canadá con 15 millones, y con 15 millones América Latina. (Tabla 1)

México ocupa el noveno lugar de personas con diabetes con 6 millones de personas, la cual provoca cada hora la muerte de 5 mexicanos.

En México la diabetes es la primera causa de mortalidad con 67.090 defunciones en el año 2005. (Grafica 1, Figura 1)

### **3.2.1 MAGNITUD DE LA DIABETES TIPO II:**

- Es la primera causa de ceguera en muchos países occidentales y en México se sitúa en segundo lugar, detrás de la miopía.
- Es la primera causa de amputación de miembros inferiores de origen no traumático realizados en nuestro país.
- Es la primera causa de insuficiencia renal en la mayoría de los países occidentales y en México.
- Aumenta entre 2 y 6 veces la frecuencia del infarto de miocardio y por encima de 10 veces la de trombosis cerebral.

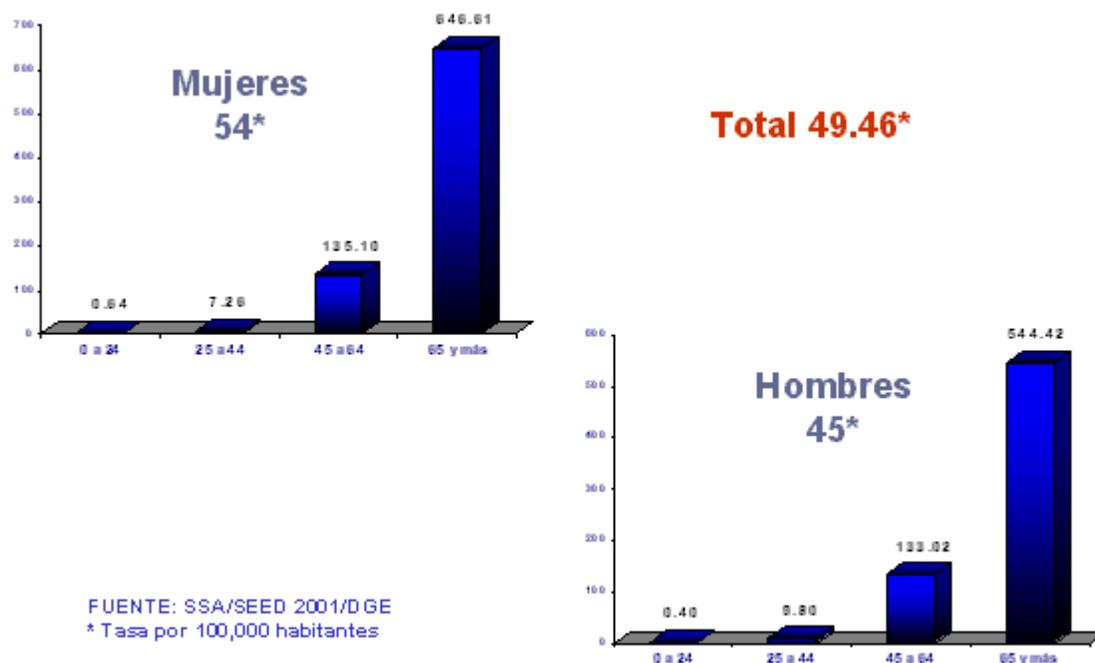
### 3.2.2. Panorama Epidemiológico

Tabla 2. Situación mundial de la diabetes tipo I y II

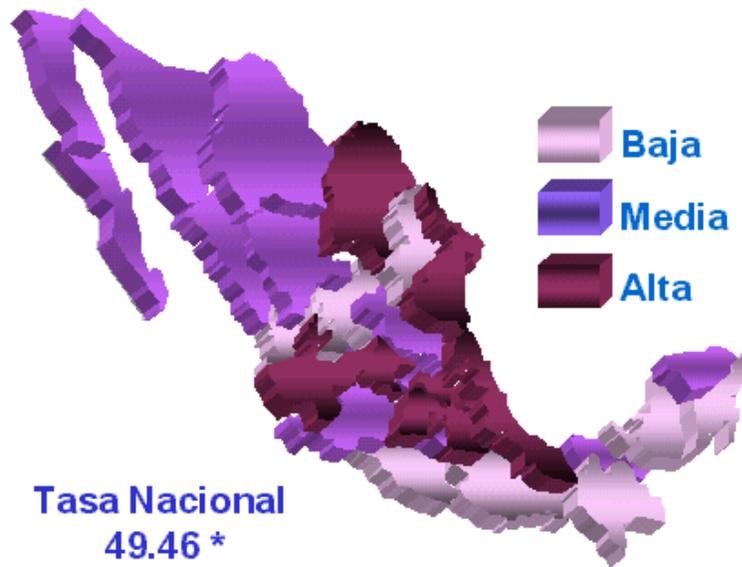
1995			2025		
		Millones			Millones
1º	India	19	1º	India	57
2º	China	16	2º	China	38
3º	U.S.	14	3º	U.S.	22
4º	Rusia	9	4º	Pakistán	15
5º	Japón	6	5º	Indonesia	12
6º	Brasil	5	6º	Rusia	12
7º	Indonesia	5	7º	México	12
8º	Pakistán	4	8º	Brasil	12
9º	México	4	9º	Egipto	9
10º	Ucrania	4	10º	Japón	9
Total en el mundo		135	Total en el mundo		300

FUENTE: King h, Aubert R, Herman W. Global Burden of Diabetes, 1995-2025. Diabetes Care 1998; 21(9)pp 1414-1431

Mortalidad por diabetes mellitus, según sexo y grupo de edad, México 2001 Gráfica 1



Mortalidad por Diabetes Mellitus, según Entidad Federativa México, 2001 Figura 1



FUENTE: SSA / SEED 2001 / DGE  
\* Tasa por 100,000 habitantes

### 3.3. Terapéutica de la diabetes mellitus tipo II

#### Hipoglucemiantes Orales

Actualmente existe gran variedad de hipoglucemiantes para el manejo del paciente con diabetes tipo II. Los fármacos con los que se cuenta tienen diferente modo de acción como son: inhibidores de las  $\alpha$ -glucosidasas, sulfonilureas, biguanidas y tiazolidinedionas, que se describen en la tabla 3. (Zurita, 2004)

**Tabla 3. Fármacos hipoglucemiantes y su modo de acción**

HIPOGLUCEMIANTES	EJEMPLOS	M. DE ACCIÓN
Sulfonilureas	Glibenclamida, Gliclazida, Tolbutamida, Acetohexamida, Tolazamida, Clorpropamida	Aumento de la estimulación a las células $\beta$ del páncreas para la liberación de insulina este efecto se produce por un bloqueo de la bomba K-ATPasa lo que se traduce en una despolarización prolongada de la membrana celular, con el consiguiente ingreso del $Ca^{++}$ provocando la liberación de insulina de los gránulos secretorios hacia el torrente sanguíneo (Malgor, 1995)
Biguanidas	Rosiglitazona, Troglitazona, Pioglitazona	El mecanismo de estos fármacos se lleva a cabo mediante la unión al subtipo $\gamma$ del receptor nuclear de proliferación activado por peroxisomas produciendo de esta manera un aumento en la transcripción de genes de las enzimas que normalmente son inducidas por la insulina, esta acción se lleva a cabo en el tejido muscular y graso, todo esto se traduce en un aumento de la utilización periférica de glucosa (Arno. 2001 y Freijanez, 1996).
Inhibidores de la $\alpha$ -Glucosidasa	Miglitol, Acarbosa	El mecanismo fundamental es la inhibición reversible y competitiva de las $\alpha$ glucosidasas en el borde del cepillo de la mucosa intestinal, produciendo el retraso en la absorción de los hidratos de carbono complejos, con la consiguiente reducción del pico máximo de glicemia postprandial (Ruiz et al., 1999; Hardman et al., 1996; Arno et al., 2001)

### **3.4. Páncreas**

El páncreas, mediante sus hormonas glucagón e insulina, desempeña un papel fundamental en la regulación del metabolismo de la glucosa, que es el principal combustible metabólico utilizado por todas las células de nuestro organismo. Algunas de ellas, como las neuronas y los eritrocitos, la requieren de forma indispensable, de ahí que el mantenimiento de la glucemia dentro de unos estrechos márgenes sea de un enorme interés para un óptimo funcionamiento del organismo. (Buitrago, 1998)

#### **3.4.1. Insulina**

La insulina es un polipéptido que tiene un peso molecular de 6000 KDa, consta de dos cadenas polipeptídicas unidas por puentes disulfuro. Se produce en las células beta del páncreas y su síntesis se inicia con la formación de preproinsulina, la cual se transforma en proinsulina y posteriormente en un tripéptido que se divide en dos componentes equimoleculares; uno de ellos es el péptido C y, el otro, la insulina. La secreción de insulina es pulsátil y su principal regulador es la glucosa. (Casanueva, 2004)

#### **Funciones de la insulina**

La insulina es la hormona anabolizante por excelencia. Su función primordial es favorecer la incorporación de la glucosa sanguínea a las diferentes células insulinosensibles (músculo, hígado y tejido adiposo) del organismo, donde actúa como fuente energética.

Gracias a la insulina la glucosa no utilizada se almacena en forma de glucógeno en el hígado y en el músculo. También propicia la conversión de la glucosa en grasas cuando el consumo de glúcidos es elevado.

En cuanto al metabolismo proteínico, la insulina estimula la captación celular de aminoácidos para la síntesis proteínica. A su vez disminuye la gluconeogénesis hepática a partir de los aminoácidos. La secreta de insulina en ayunas, es a un ritmo de 0.5 U por hora, secreción que aumenta cuando hay una elevación de la tasa de glucemia (glucosa en sangre). La cifra normal de glucemia en ayuno es de 0.60 a 1.10 g/L. Después de la ingestión de glucosa o de las comidas la glucosa se eleva. La secreción de insulina será consecuencia de la glucosa ingerida. (Cervera, 1994)

Entre las acciones metabólicas de la insulina se sabe que activa la entrada de glucosa al interior de las células de los músculos esqueléticos, cardíaco y tejido adiposo. La entrada de glucosa al hígado es independiente de la insulina. La insulina inhibe la gluconeogénesis hepática, la lipólisis en el tejido adiposo, activa la glucólisis, estimula la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos en el tejido adiposo y el hígado. (Buitrago, 1998)

### **Efectos de la deficiencia de insulina**

En cuanto a la deficiencia de esta hormona, se le puede describir de manera simplificada como la necesidad de utilizar glucosa y la inhibición de su neoformación. Además, el transporte de este compuesto desde la sangre a muchos de los tejidos depende de la insulina (excepto en el caso del hígado, el sistema nervioso central y los eritrocitos).

El metabolismo de los lípidos del tejido adiposo también es influido por la insulina. En este caso la insulina estimula la síntesis de ácidos grasos a partir de la glucosa. Por otro lado, la insulina inhibe la degradación de las grasas mediante lipasas y también disminuye la degradación de las proteínas en la musculatura.

Un detalle particularmente llamativo es el aumento de la concentración sanguínea de glucosa de 5 mM a 9 mM (90 mg/dL a 160 mg/dL). En el músculo y en el tejido adiposo, los consumidores más importantes de glucosa, la captación y la

utilización de ésta se alteran. También se altera desfavorablemente la utilización en el hígado. Al mismo tiempo se observa una estimulación de la gluconeogénesis, entre otras cosas por el aumento de la proteólisis en el músculo, con lo cual aumenta aún más el nivel de glucosa en sangre. Si se sobrepasa la capacidad del riñón para reabsorber la glucosa (lo que ocurre con concentraciones plasmáticas de 9 mM y mayores) el paciente diabético elimina glucosa en la orina (**glucosuria**).

El aumento de la degradación de las grasas por la deficiencia de insulina tiene consecuencias graves. Los ácidos grasos obtenidos en gran cantidad se emplean parcialmente en el hígado para la síntesis de las lipoproteínas (hiperlipidemia) y el resto se degrada hasta acetyl-CoA, y a partir de ella se producen cuerpos cetónicos. A pH fisiológico los cuerpos cetónicos liberan protones (iones  $H^+$ ) y por eso los diabéticos tratados en forma insuficiente pueden desarrollar estados graves de acidosis metabólica (coma diabético). La acetona que se produce le confiere un olor característico al aliento de estos pacientes y además en la orina aparecen grandes cantidades de cuerpos cetónicos (cetonuria). (Koolman, 2004)

### **Uso de la insulina en el tratamiento de la Diabetes**

El uso de la insulina se requiere para la sobrevivencia de todos los pacientes con Diabetes Mellitus tipo I y II, que en periodos de estrés o enfermedad requieren suplementos de insulina exógena, para lograr el adecuado control de la glucemia y en ocasiones cuando fracasa la dieta, el ejercicio y los hipoglucemiantes orales.

### **3.5. Metabolismo de Hidratos de Carbono**

Se denomina metabolismo al conjunto de reacciones químicas catalizadas enzimáticamente que de forma regulada y coordinada tienen lugar en las células vivas. El metabolismo se divide en catabolismo, que es la fase degradativa, y en anabolismo que es la fase constructiva o biosintética. (Garrido, 2001)

### 3.5.1. Glucólisis

La glucólisis es una vía catabólica del citoplasma que existe en casi todos los organismos, sean aerobios o anaerobios. El balance de la glucólisis es sencillo: la glucosa se fragmenta en dos moléculas de piruvato y además se forman dos moléculas de ATP (Adenosin Trifosfato) y NADH (Nicotinamida adenina dinucleótido) + H<sup>+</sup>

En presencia de oxígeno el piruvato y el NADH y H<sup>+</sup> alcanzan la mitocondria y allí son nuevamente transformados (glucólisis aerobia). En condiciones de anaerobiosis a partir del piruvato y del NADH y H<sup>+</sup> deben producirse en el citoplasma productos de fermentación como el lactato o el etanol para regenerar el NAD<sup>+</sup> necesario para la continuación de la glucólisis. En estas condiciones la glucólisis es la única posibilidad de sintetizar ATP de las células animales.

#### Reacciones de la glucólisis

La glucólisis comprende diez pasos individuales, entre ellos tres isomerizaciones y cuatro transferencias de fosfatos. (Figura 2)

1.- La glucosa, que en las células animales es tomada de la sangre, en primer término y con consumo de ATP es fosforilada a glucosa-6-fosfato, compuesto que ya no podrá abandonar la célula.

2.- En el paso siguiente la glucosa-6-fosfato es isomerizada a fructosa-6-fosfato.

3.- Con consumo de ATP se produce una nueva fosforilación que da como resultado fructosa-1,6-bifosfato. La fosfofructocinasa es la enzima clave o enzima marcapaso más importante de la glucólisis.

4.- La fructosa-1,6-bifosfato es fraccionada por la aldolasa en los compuestos C3 gliceraldehído-3-fosfato y glicerona-3-fosfato.

5.- Ambos productos alcanzan rápidamente el equilibrio por acción de la triosa-fosfato-isomerasa.

6.- El gliceral-3-fosfato es oxidado por la gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa y se produce  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . En este paso el fosfato inorgánico se incorpora a la molécula y se forma el 1,3-bifosfoglicerato. Este compuesto intermedio tiene un enlace de anhídrido ácido mixto cuya porción de fosfato se encuentra a un elevado potencial químico.

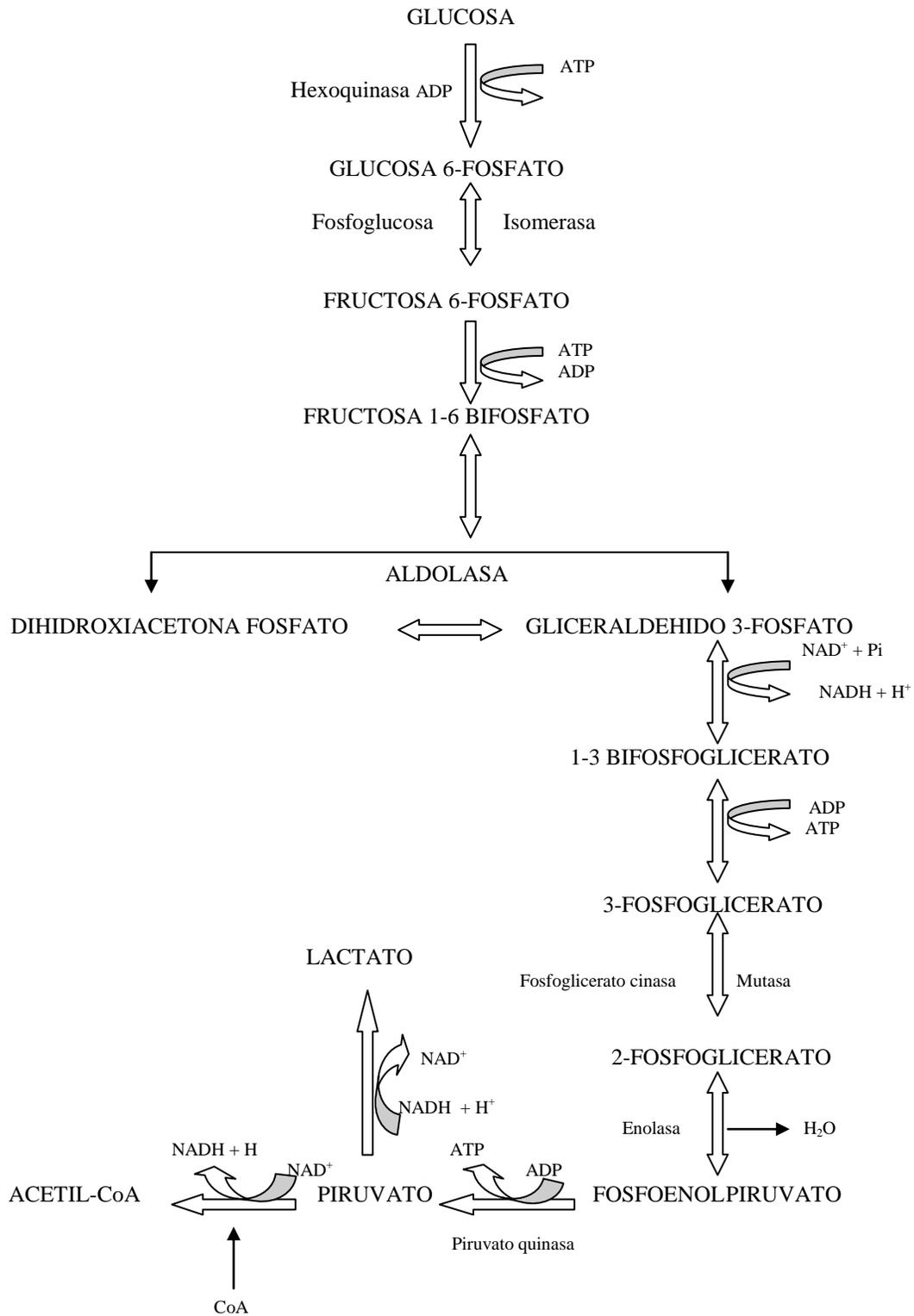
7.- Catalizado por la fosfogliceratocinasa este residuo de fosfato es transferido al adenosindifosfato (ADP) y se forman 3-fosfoglicerato y ATP. El balance de ATP se encuentra nuevamente nivelado.

8.- El desplazamiento del residuo de fosfato restante hacia el interior de la molécula da lugar a la formación del isómero 2-fosfoglicerato.

9.- Con liberación de una molécula de ATP a partir del 2-fosfoglicerato se forma el fosfoenolpiruvato, el éster del ácido fosfórico de la forma enólica del piruvato.

10.- En el último paso la enzima piruvato-cinasa transfiere este residuo al ADP. El enol-piruvato restante se transforma de inmediato a piruvato que es mucho más estable. (Koolman, 2004)

**Figura 2 RUTA DE LA GLUCOLISIS**



### 3.5.2. Gluconeogénesis

Algunos tejidos como el cerebro y los eritrocitos, dependen permanentemente del suministro de glucosa. Si las cantidades suministradas con la alimentación son insuficientes, la concentración de glucosa en la sangre (nivel de glucosa sanguínea) puede mantenerse durante cierto tiempo por medio de la degradación del glucógeno hepático. Cuando esa reserva se agota se pone en marcha la síntesis *de novo* de la glucosa, es decir la gluconeogénesis, de la que también es responsable sobre todo el hígado. Los principales precursores de la biosíntesis de la gluconeogénesis son los aminoácidos del músculo. Otro precursor importante es el lactato, que se produce en los eritrocitos y en el músculo en condiciones de déficit de oxígeno. El glicerol procedente de la degradación de los ácidos grasos también puede servir para la gluconeogénesis pero en los animales el metabolismo no es capaz de degradar los ácidos grasos para producir glucosa. El organismo humano puede formar cientos de gramos de glucosa por día a través de la gluconeogénesis.

Mientras que la glucólisis tiene lugar exclusivamente en el citoplasma, en la gluconeogénesis participan también las enzimas de las mitocondrias y del retículo endoplásmico. La gluconeogénesis consume 4 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa, es decir el doble de las que son generadas por la glucólisis. (Koolman, 2004) (Figura 4)

## Reacciones de la gluconeogénesis

1.- El lactato, como precursor de la gluconeogénesis, proviene sobre todo de la musculatura y de los eritrocitos. La LDH oxida el lactato a piruvato con formación de NADH + H<sup>+</sup>.

2.- Los primeros pasos de la gluconeogénesis propiamente dicha tiene lugar en las mitocondrias. La causa de esta desviación es la situación de equilibrio de la reacción de la piruvato cinasa. Para la transformación directa del piruvato en PEP (Fosfoenol Piruvato) ni siquiera bastaría con la degradación directa del ATP. El piruvato formado a partir de la degradación de los aminoácidos del lactato es transportado primero a la matriz mitocondrial y allí, por medio de una piruvato carboxilasa dependiente de biotina es carboxilado para formar oxalacetato, compuesto que también existe como producto intermedio en el ciclo del ácido cítrico. Por eso, los aminoácidos, cuya degradación desemboca en el ciclo del ácido cítrico o en la liberación de piruvato, pueden ser convertidos en glucosa.

3.- El oxalacetato formado en la matriz mitocondrial es reducido en primer término a malato, el que por los sistemas de transporte que existen en la membrana interna puede salir de la mitocondria.

4.- En el citoplasma se forma nuevamente oxalacetato pero una PEP-carboxinasa dependiente del Guanosin Trifosfato (GTP) la transforma en fosfoenolpiruvato. Los demás pasos hasta la conversión en fructosa-1,6-bifosfato comprenden las reacciones reversibles correspondientes de la glucólisis. En estos pasos se forma 1,3-bifosfo-glicerato por cada fragmento C3, para lo cual se requiere una molécula adicional de ATP.

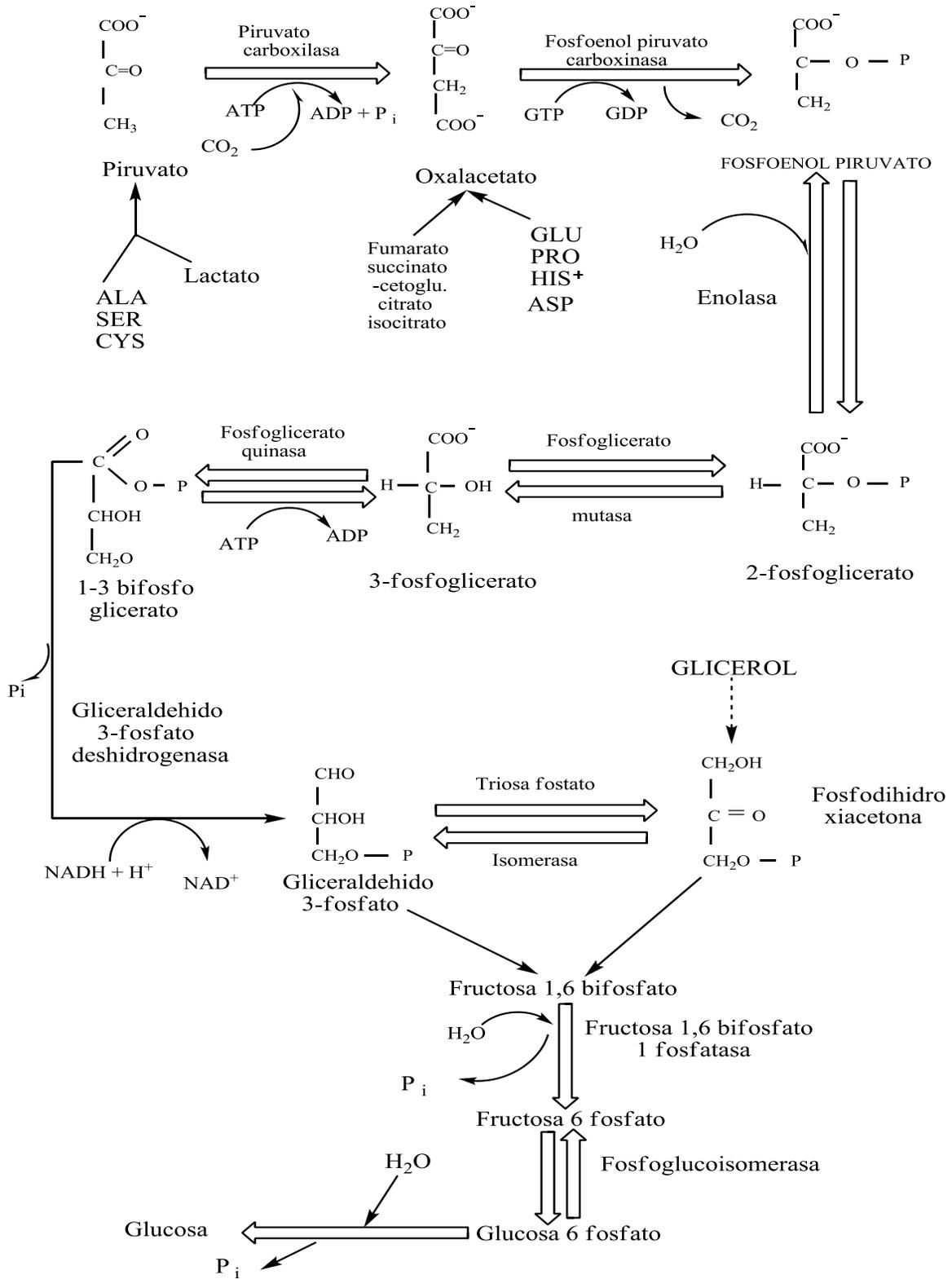
Dos fosfatasas específicas de la gluconeogénesis liberan sucesivamente los residuos de fosfato de la fructosa-1,6-bifosfato, otra reacción de la glucólisis.

5.- La reacción catalizada por la fructosa-1,6-bisfosfatasa es un importante punto de regulación en la gluconeogénesis.

6.- La última enzima de la vía, la glucosa-6-fosfatasa, se encuentra presente en el hígado pero no en músculo. Se trata de una enzima de la membrana que se localiza en el interior del retículo endoplásmico liso. Transportadores específicos posibilitan la entrada de la glucosa-6-fosfato en el retículo mencionado o el retorno de la glucosa formada al citoplasma, desde el cual finalmente es liberada al torrente sanguíneo.

7.- El glicerol es fosforilado en la posición tres y el glicerol-3-fosfato formado es oxidado a dihidroxiacetona-3-fosfato por una deshidrogenasa dependiente de la reacción. (Koolman, 2004)

**FIGURA 3 RUTA DE LA GLUCONEOGENESIS**



### **3.5.3. Metabolismo del glucógeno**

En el organismo el glucógeno sirve como reserva de hidratos de carbono que puede ser utilizado en caso de necesidad de glucosa fosfato o de glucosa. El glucógeno de los animales es un homopolímero ramificado de la glucosa en el que los residuos de ésta están unidos por enlaces glucosídicos  $\alpha 1 \rightarrow 4$ . Aproximadamente cada 10 residuos se encuentra un enlace  $\alpha 1 \rightarrow 6$  unido a una glucosa adicional. Estas ramificaciones se prolongan con otros residuos de glucosa por medio de nuevas uniones  $\alpha 1 \rightarrow 4$ . De este modo se forman estructuras arborescentes de hasta 50.000 residuos.

El glucógeno hepático nunca se degrada totalmente. En general los extremos no reductores de las ramificaciones se degradan acortándose o bien, si existe una gran disponibilidad de glucosa se alargan. (Koolman, 2004)

#### **Reserva de glucógeno**

El organismo humano puede almacenar hasta 450 g de glucógeno; una tercera parte de esta cantidad se localiza en el hígado y casi todo el resto en la musculatura. El contenido de glucógeno hepático sirve sobre todo para mantener el nivel sanguíneo de glucosa en la fase posresortiva de modo que el contenido de glucógeno de hígado es muy variable. Durante el ayuno prolongado desciende cerca de cero y después la gluconeogénesis se encarga de suministrar glucosa al organismo. El glucógeno sirve como reserva de energía y no participa en la regulación del nivel de glucosa en sangre porque los músculos no contienen glucosa-6-fosfatasa y por eso no pueden liberar glucosa al torrente sanguíneo. (Koolman, 2004)

### **3.5.4. Glucemia**

Contenido de glucosa en la sangre cuyo valor normal se sitúa en 1 g/L. Este valor depende de dos factores, la insulina, que tiende a reducirlo, y el glucagón, que tiende a elevarlo. Un valor elevado indica diabetes que puede ser o no insulino-dependiente. Después de una ingestión de glúcidos, se observa un pico de hiperglucemia cuya importancia depende de la aptitud del páncreas para secretar rápidamente insulina y

anular dicha hiperglucemia así como la velocidad de hidrólisis y de absorción intestinal de glúcido ingerido. Cuando éste provoca rápida e intensamente un pico de hiperglucemia después de su administración, se le clasifica entre los glúcidos rápidos, y cuando la hiperglucemia post-prandial se manifiesta más lentamente y dura más tiempo, se dice que el glúcido es lento. (Jean Adrián, 1990)

### **Regulación de la glucemia**

El hígado participa activamente en la regulación de la glucemia, adaptándose a las necesidades del organismo en situaciones como el ayuno, el ejercicio y el estrés. En el control de la glucemia participan fundamentalmente las hormonas hiperglucemiantes: adrenalina, glucagón y glucocorticoides y una única hormona hipoglucemiante, la insulina. Sistemáticamente, insulina y glucagón tienen efectos contrapuestos, de manera que es la relación glucagón/insulina la que se modifica en respuesta a las situaciones de hiperglucemia e hipoglucemia.

El glucagón se libera por las células  $\beta$  del páncreas en respuesta a la hipoglucemia. El glucagón se une a sus receptores específicos en la membrana plasmática de las células de sus órganos diana, el hígado y el tejido adiposo. El complejo hormona-receptor interactúa con las proteínas G que, a su vez, activan la adenilato ciclasa, lo que eleva el adenosina monofosfato (AMP) cíclico y produce la activación ulterior de la proteína quinasa A. En el hígado, el glucagón estimula la degradación del glucógeno y la gluconeogénesis. (Buitrago, 1998)

#### **3.5.5. Índice glucémico**

El índice glucémico (IG) mide la velocidad a la que se digieren los alimentos y se convierte en glucosa, la cual es una fuente de energía, cuanto mayor es la velocidad en que se degradan los alimentos, mayor será su puntuación en el índice.

## SEGUNDA PARTE

### 4. MEDICINA TRADICIONAL

El hombre ha hecho uso de los productos de la naturaleza desde tiempos inmemoriales, no sólo para satisfacer su hambre, sino también con el fin de sanar sus enfermedades, cicatrizar sus heridas y elevar su estado de ánimo. (Rodríguez, 2005)

Sin embargo, para tener un mejor aprovechamiento de éstas se requieren hacer investigaciones con las que se pueda asegurar que los compuestos presentes en la planta son los responsables del efecto y que no son tóxicos en las dosis que se recomienda tomarlos. (Mendiola, 2009)

Las autoridades públicas de algunos países como Francia y Alemania han sido conscientes de la necesidad de introducir un marco apropiado para la comercialización de medicamentos fitoquímicos, para ofrecer a los consumidores una garantía de calidad y seguridad, creando así una especialidad farmacéutica que tenga bases científicas antes de su comercialización y que respondan a los reglamentos sanitarios. (Bruneton, 2001)

El estudio de las plantas medicinales es una fuente importante para encontrar nuevos medicamentos. Una de las enfermedades que es tratada con remedios medicinales es la diabetes mellitus tipo II que, actualmente, es muy común entre la población a nivel mundial y por lo cual es muy importante el estudio de estas plantas (Mendiola, 2009). Enseguida se muestran una serie de plantas que se han utilizado tradicionalmente en México y en otros países por su efecto hipoglucémico. (Tabla 4, Tabla 5)

**Tabla 4 PLANTAS UTILIZADAS EN MÉXICO QUE PRESENTAN UN EFECTO HIPOGLUCÉMICO**

<b>NOMBRE CIENTIFICO</b>	<b>NOMBRE COMUN</b>	<b>PARTE DE LA PLANTA</b>	<b>COMPUESTOS PRINCIPALES</b>
<i>Acosmium panamense</i> (1)	Guayacan	Corteza	Alcaloides, ácido cafeico
<i>Agarista mexicana</i> (1)	Palo santo	Hojas	Triterpenos
<i>Allium cepa</i> (2)	Cebolla	Bulbo	Disulfuro propilo de alilo
<i>Brickellia veronicaefolia</i> (1)	Orégano de monte	Hojas y corteza	Flavona, flavonoles, diterpenos
<i>Cecropia obtusifolia</i> (10)	Guarumbo	Hojas	Acido clorogénico, isoorientin
<i>Curcubita ficifolia</i> (1)	Chilacayota	Fruto y semillas	Lectinas
<i>Guazuma ulmifolia</i> (3)	Guázimo	Corteza	Alcaloides, taninos
<i>Ibervillea sonora</i> (4)	Guaregui	Raíz	Alcaloides, cumarinas, taninos, terpenos, esteroides, saponinas
<i>Larrea tridentata</i> (5)	Gobernadora		Flavonoides, esteroides, alcaloides, saponinas
<i>Malmea depressa</i> (1)	Elemuy	Raíz	Fenoles y alcaloides
<i>Parmentiera aculeata</i> (1)		Fruto, corteza	Taninos, $\beta$ -sitoesterol
<i>Tamarindus indica</i> (6)	Tamarindo	Semillas	Tocoferoles
<i>Tecoma stans</i> (7)	Tronadora	Hojas	Acido clorogénico, fenoles
<i>Tournefortia hartwegiana</i> (8)	Hierba rasposa	Hojas	Triterpenos, alcaloides, flavonoides
<i>Tournefortia hisutissima</i> (9)	Lágrima de san Pedro	Tallo	No determinados en este estudio

1-Andrade, 2005; 2-Islas, 2003; 3-Alonso, 2008; 4-Alarcon, 2004; 5-Arteaga, 2005; 6-García, 2004; 7—Aguilar, 2009; 8-Ortiz, 2005; 9-Andrade, 2007; 10-Andrade 2010.

**Tabla 5 PLANTAS UTILIZADAS EN OTROS PAISES QUE PRESENTAN UN EFECTO HIPOGLUCÉMICO**

<b>NOMBRE CIENTIFICO</b>	<b>NOMBRE COMUN</b>	<b>PARTE DE LA PLANTA</b>	<b>COMPUESTOS PRINCIPALES</b>
1- <i>Annoa squamosa</i>	Chirimoya	Hojas	Flavonoles, alcaloides
2- <i>Acorus calamus</i>			No determinados en este estudio
3- <i>Caesalpinia bonducella</i>	Nata karanja	Semillas	No determinados en este estudio
4- <i>Camellia sinensis</i>	Té verde	Hojas	Polifenoles, cafeína
5- <i>Capparis decidua</i>		Fruto	Alcaloides, flavonoides y glucosidos
6- <i>Cichorium intybus</i>	Chiricoy	Raíz, hojas	Inulina
7- <i>Cleodendrum capitatum</i>	Feremomi	Hojas	Taninos, alcaloides, flavonoides,
8- <i>Corni suppresses</i>			Compuestos fenolicos, ácido úrsolico
9- <i>Cornus officinalis</i>	Corni	Fruto	Compuestos fenolicos
10- <i>Costus pictus</i>	Espiral ginger	Hojas	Taninos, glucósidos, flavonoides,
11- <i>Cynodon dactylon</i>	Doob		Fenoles, esteroles
12- <i>Helicteres isora</i>		Raíz y corteza del tronco	No determinados en este estudio
13- <i>Murralla koengii</i>	Curry	Hojas	Alcaloides, flavonoides, taninos
14- <i>Myrtus communis</i>	Mirtle	Hojas	Fenoles (tocoferoles, flavonoides) alcaloides
15- <i>Panax ginseng</i>	Ginseng	Hojas	Fenoles, ginsenósidos, saponinas
16- <i>Phyllanthus simplex</i>	Buiaonla		Alcaloides, fenoles, triterpenos, ligninas
17- <i>Posodoni oceánica</i>			Polifenoles
18- <i>Rosmarinus officinalis</i>			Acido cafeico, ácido carnosonico, ácidos fenólicos, Diterpenos
19- <i>Salvia officinalis</i>		Hojas	Polifenoles, flavonoides, ácido cafeico
20- <i>Vatairea macrocarpa</i>		Corteza del tronco	No determinados en este estudio
21- <i>Vernonia colorata</i>		Hojas	Taninos, saponinas, lactonas

1-Kuma, 2008; 2-Mei, 2010; 3-Chakrabarti, 2004; 4-Kuttan, 2002; 5-Sharma, 2009; 6- Pushparaj, 2006; 7-Adeyene, 2007; 8-Chih, 2008; 9-Chien, 2008; 10-Santosh, 2008; 11-Kumar, 2007; 12-Kumar, 2006; 13-Narayan, 2007; 14-Sepici, 2006; 15-Jung, 2004; 16-Sabe, 2009; 17-Gokce, 2007; 18-Eidi, 2005; 19-Oliveira, 2007; 20-Cissé, 2005.

## **4.1 Principales compuestos y posibles mecanismos de acción de las plantas con efecto hipoglucémico.**

### **4.1.1. Polisacáridos**

Los polisacáridos constituyen un grupo heterogéneo de polímeros, en el que intervienen más de 10 monosacáridos unidos por distintos enlaces glucosídicos; los polisacáridos de menos de 10 unidades son los oligosacáridos. Se encuentran como cadenas lineales o ramificadas, que a su vez pueden estar integradas por un solo tipo de monosacáridos (homopolisacárido): como el almidón y la celulosa o por varios tipos de monosacáridos (heteropolisacáridos): como es el caso de la mayoría de las gomas.

### **4.1.2. Fibra dietética**

La fibra dietética está constituida por aquellas partes de las plantas que no son digeridas en el tracto gastrointestinal por acción de las enzimas. Sin embargo, la fibra es importante ya que facilita los procesos digestivos y protege al intestino. (Tolonen, 1995)

Las fibras se dividen en dos tipos: solubles e insolubles. Dentro de las primeras se pueden mencionar pectinas, glucanos, gomas (guar, arábigo, algarrobo, tragacanto, xantana, konjac), inulina y polidextrosa. Como fibras insolubles: la celulosa, hemicelulosa, lignina, cutina, suberina, quitina y quitocina. (Mitchel, 2006).

#### **Fibra soluble**

- Pectinas: (Figura 5) son sobre todo abundantes en los frutos de las Dicotiledóneas y características del espacio intercelular, son poligalacturononas muy hidrófilas que constituyen en parte la matriz en la que se incluyen las fibras de celulosa de la pared. (Bruneton, 2001)
- Inulina: (Figura 4) es un polímero de fructosa con enlaces  $\beta(2-1)$ . Es soluble en agua y no es hidrolizado por el sistema digestivo, se comporta de manera semejante a la

fibra soluble aumentando la viscosidad en el estomago. Varios alimentos contienen inulina, especialmente la planta achicoria (*Cychorium intybus*) y yacon (*Smallanthus sochifolius*). El principal efecto de la inulina sobre el índice glucémico, se debe al incremento de la viscosidad en el lumen, contribuyendo a disminuir la absorción de glucosa, por lo que se considera benéfica, tanto para personas sanas como diabéticas. (Pushparaj, et al., 2006)

Gomas y mucílagos. El uso práctico designa con el nombre de gomas y de mucílagos a las macromoléculas osídicas que forman disoluciones o geles . Las gomas se solidifican por desecación, son insolubles en disolventes orgánicos. (Bruneton, 2001) Las gomas vegetales son polisacáridos contenidos en las semillas y en algas, es un polisacárido resistente, hidrosoluble formado por unidades preferentemente de glucosa, galactosa, manosa, arabinosa, ramnosa y sus conjugados con el ácido úronico. (Tolonen, 1995)

En cuanto a los mucílagos se considera que son constituyentes celulares normales, preexisten en formaciones histológicas especializadas (células o canales) frecuentes en el tegumento externo de las semillas. Están ampliamente distribuidos siendo frecuentes en malvales (mucílagos ácidos) y en fabales (mucílagos neutros del endospermo). Son agentes de retención hídrica, que poseen un papel activo en la germinación. (Bruneton, 2001)

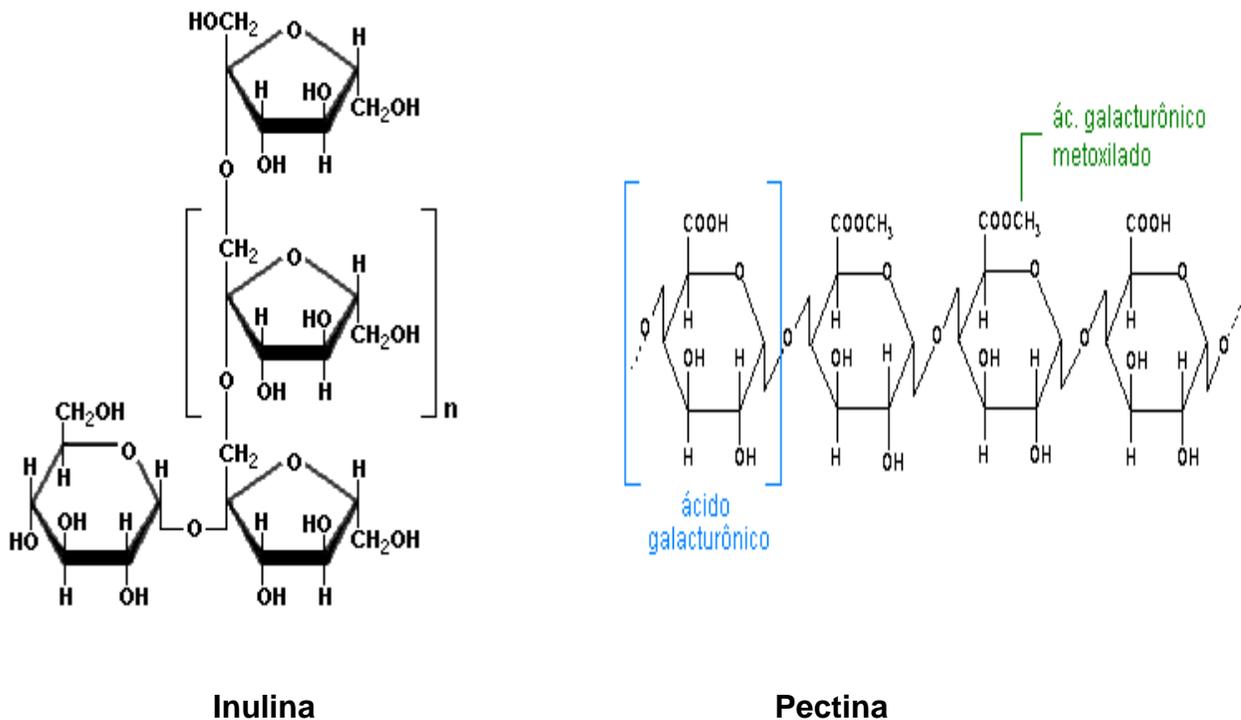
### **Fibra insoluble**

- Celulosa: es el polisacárido estructural de todo el reino vegetal; por ser considerado el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza y constituir una fuente de glucosa prácticamente inagotable que se renueva de forma continúa mediante la fotosíntesis. (Badui, 2006)

- Lignina. En general es poco abundante en los tejidos vegetales ingeridos por el hombre (legumbres, frutos), es un heteropolímero tridimensional formado por unidades fenilpropánicas. Muy hidrófoba, se incrusta progresivamente en las paredes secundarizadas confiriendo rigidez, impermeabilidad y resistencia a los vegetales.

- Hemicelulosa: Son polisacáridos extraíbles por diluciones alcalinas diluidas, son polímeros mixtos de osas neutras y ácidas, homo y heteropolisacáridos, cuya estructura es variable, xiloglucanas, xilanas, glucuronoxilanas, arabinoxilanas, glucuronoarabinoxilanas,  $\beta$ -glucanos no celulósicas de ciertos cereales, etc. (Bruneton, 2001)

**Estructuras de algunos polisacáridos responsables de ejercer efecto hipoglucémico**  
 figura 4 inulina figura 5 pectina



### Efecto biológico de la fibra dietética

La composición de las fibras es variable, no todas tienen el mismo comportamiento biológico y es muy difícil establecer una relación precisa entre la composición de las fibras y las propiedades biológicas que se les atribuye. Los posibles efectos fisiológicos dependen en gran parte de la naturaleza de las fibras, de su granulometría, porosidad, solubilidad: la riqueza relativa en fibras solubles o insolubles en agua condiciona en

gran parte los efectos fisiológicos. La reactividad del polímero respecto a otras moléculas presentes en el tubo digestivo (adsorción, capacidad de intercambio iónico) igualmente depende en gran manera de su estructura. Es más, los tratamientos aplicados por las fibras durante la preparación industrial o doméstica de los alimentos modifica sus propiedades físicoquímicas y por consiguiente sus efectos fisiológicos. (Bruneton, 2001)

### **Funciones de la fibra en el organismo**

- Aumenta la masa de las heces del intestino acelerando el tiempo de tránsito.
- Retrasa el paso de los alimentos en los primeros estadios de la digestión, esto es, boca y estómago, con lo que produce pronto sensación de saciedad. También retrasa el paso del alimento del estómago al intestino delgado, lo que influye en la absorción de los nutrimentos del intestino por la circulación general. La pectina y las gomas suprimen la actividad intestinal al endurecerse el contenido entérico de la extremidad distal del intestino delgado. Por ello la glucosa y los demás nutrimentos se absorben con mayor lentitud y más uniformemente.
- Disminuye la presión sobre el colon y normaliza los movimientos peristálticos (contracciones en forma de onda y movimientos de liberación que impulsan el contenido a lo largo del intestino).
- Estabiliza la absorción de la glucosa, hecho particularmente importante para los diabéticos. (Tolonen, 1995)
- Reduce el colesterol en sangre
- Evita el cáncer de colon

### **Propiedades físicas de la fibra.**

La fibra de las plantas verdes absorbe mucha agua, mientras que la del salvado tiene un menor poder absorbente. La fibra que forma gel retrasa la absorción intestinal de monosacáridos, de las vitaminas hidrosolubles y de los fármacos. Esta propiedad se aprovecha para el tratamiento de la diabetes ya que la fibra disminuye la absorción de monosacáridos. Los diabéticos que ingieren una dieta de alto contenido en fibra

muestran una mejoría en los niveles glucémicos y una disminución de las necesidades insulínicas. (Tolonen, 1995)

La goma guar, como las pectinas llaman la atención de los especialistas en nutrición por las interferencias que parece provocar, al igual que las demás fibras “solubles” en el metabolismo de los glúcidos y de los lípidos. A nivel del metabolismo glucídico, diversas experimentaciones realizadas en sujetos normales y en diabéticos, tienden a demostrar que la adición de guar a la dieta alimentaria disminuye la hiperglucemia y la insulinemia postprandial, esto estaría relacionado principalmente con la gran viscosidad de la goma guar que retarda el vaciado gástrico y reduce la velocidad de absorción de los azúcares a nivel intestinal. (Bruneton, 2001)

#### **4.1.3 Estudios realizados a plantas que sugieren efecto hipoglucémico a su contenido de fibra dietética.**

##### **4.1.3.1. Efectos fisiológicos del $\beta$ -glucano de avena en humanos.**

Se realizó una prueba experimental del polisacárido  $\beta$ -glucano contenido en el salvado de avena (15%) en un grupo de personas sanas y diabéticas, y se formaron los siguientes grupos:

##### **Grupo A de personas sanas:**

Grupo 1a, se le preparó una dieta a base de salvado de avena

Grupo 2a su dieta consistía en harina de trigo refinada mas una cantidad equivalente de  $\beta$ -glucano

Grupo 3a su dieta consistía solo en harina refinada de trigo que sirvió como control

##### **Grupo B de personas diabéticas**

Grupo 1b, se le preparó una dieta a base de salvado de avena

Grupo 2b su dieta consistía en harina de trigo refinada mas una cantidad equivalente de  $\beta$ -glucano

Grupo 3b su dieta consistía solo en harina refinada de trigo que sirvió como control

Las comidas eran de tipo cereal e incluían pan blanco, se prepararon de forma que las texturas fueran similares. Las comidas de salvado de avena y las de harina refinada de trigo más el  $\beta$ -glucano redujeron los niveles postprandiales de glucosa e insulina en plasma comparados con el control que solo recibió harina refinada de trigo, tanto en sujetos sanos como en sujetos con diabetes tipo II. El estudio demostró que el efecto de la reducción de los niveles postprandiales de glucosa e insulina en plasma, la fibra contenida en las paredes celulares nativas del salvado de avena es similar al de una goma de avena aislada incorporada a una comida. (Mazza, 2000)

#### **4.1.3.2. Efecto antidiabético de *Cichorium intibus*:**

Pushparaj y otros investigadores (2006) realizaron un bioensayo para confirmar dicho efecto, se utilizaron ratas macho de 9 semanas de edad, las cuales fueron inducidas a diabetes, se formaron cuatro grupos:

Grupo 1: control diabético (solo se administró agua destilada como vehículo)

Grupo 2: diabético se administró 125 mg/kg del extracto,

Grupo 3: diabético se administró una dosis del extracto de 250 mg/kg del extracto,

grupo 4: diabético se le administró Metformina (fármaco estándar) a una dosis de 500 mg/kg.

Preparación del extracto de la planta: Se obtuvo 1 kg de la planta completa: (raíz, tronco y hojas) se maceró y se extrajo con etanol al 80%. Se prepararon dosis del extracto de 125, 250 y 500 mg/kg.

Para el bioensayo se valoraron los siguientes parámetros: prueba de tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas y la actividad hepática de la glucosa-6-fosfato. Al día 15 las ratas se dejaron en ayuno y fueron sacrificadas. El hígado se aisló y se puso en nitrógeno líquido, para posteriormente medir la actividad de la glucosa-6-fosfatasa.

Resultados: Prueba de tolerancia a la glucosa se midió a todos los grupos (después de la administración de una carga oral de glucosa) a los 30 minutos después de la administración del extracto.

**Tabla 6 Curva de tolerancia a la glucosa a los 30 min**

Grupos [extracto]	% de glucosa al T= 30 min.
1 control (agua)	52.1
2 125 mg/kg	25.2
3 250 mg/kg	39
4 500 mg/kg (Metformina)	30.9

(Pushparaj, et al., 2006)

Las dosis del extracto de 125 mg/kg y de 500 mg/kg del fármaco mostraron una significativa atenuación en los niveles de glucosa comparados con el grupo control.

En el ensayo la actividad de la glucosa-6-fosfatasa se determinó midiendo el fosfato inorgánico liberado a partir de la glucosa-6-fosfato. La actividad hepática de la glucosa-6-fosfato disminuyó un 28% en el grupo que recibió el extracto a una dosis de 125 mg/kg comparado con el grupo diabético control que no recibió el tratamiento con el extracto y el grupo que recibió la metformina disminuyó un 38%. Por lo tanto la administración del extracto de *Cichorium intibus* y la metformina reducen significativamente la actividad de la glucosa-6-fosfato en hígado en ratas diabéticas.

Estudios previos muestran que el extracto acuoso de *Cichorium intibus* es fundamental en la reducción de glucosa que comprende la introducción al yeyuno en ratas normales. En consecuencia se tiene un efecto potencial en la reducción postprandial de glucosa por la disminución en la absorción intestinal de glucosa.

Los resultados que dio el ensayo al administrar el extracto de la planta a ratas inducidas a diabetes se mostró en los niveles de glucosa en sangre disminuyó significativamente respecto con el grupo control que no fue tratado, se cree que estos resultados se

produjeron a consecuencia de la inulina (fibra soluble) que aumentan la viscosidad en el intestino evitando así la absorción de la glucosa. (Pushparaj, et al., 2006)

## **4.2. ANTIOXIDANTES**

El Término antioxidante se aplicó a todas las sustancias que inhibían las reacciones de oxidación, independientemente de su mecanismo de acción. La oxidación se produce cuando un átomo o grupo de átomos ceden electrones reduciendo radicales libres. Las reacciones de oxido reducción son comunes en los sistemas biológicos y también en los alimentos. (Fennema, 1993)

### **4.2.1. Estrés oxidativo**

Los avances en las investigaciones bioquímicas y moleculares han demostrado que en sistemas biológicos los radicales libres son un fenómeno natural debido a que se producen por el transporte de electrones en la mitocondria. Los componentes más susceptibles de sufrir daños por estos radicales son los lípidos, proteínas y DNA; en condiciones normales las enzimas de las células son suficientes para neutralizar a los radicales libres. Las enzimas más importantes del sistema antioxidante celular son: Glutación peroxidasa, Glutación reductasa, Superóxido dismutasa y la catalasa, estas pueden ser susceptibles a la oxidación y por lo tanto su disminuir su capacidad antioxidante. En la célula el estrés oxidativo se produce cuando el ataque oxidativo, supera las defensas antioxidantes, dando como resultado una sobreproducción de radicales libres como: el superóxido ( $O_2$ ), el peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo (OH), por lo que los tejidos de las personas diabéticas sufren daños, uno de estos daños es la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad provocando peroxidación lípidica, siendo ésta un factor de riesgo en el desarrollo de aterosclerosis. (García, 2004)

La superóxido dismutasa es una enzima antioxidante muy importante, la catálisis elimina el superóxido de radicales libres en organismos aerobios y anaerobios, protege al tejido de agentes radicales libres de oxígeno por la eliminación del radical superóxido

(O<sup>2-</sup>) que daña la membrana celular y estructuras biológicas. La catalasa juega un rol muy importante eliminando los daños causados por el efecto de las especies reactivas de oxígeno (ROS), también juegan un papel importante en la etiología de las complicaciones de la diabetes. La superóxido dismutasa y la catalasa son las mejores enzimas que remueven radicales libres *in vivo*. El daño oxidativo ocurre a consecuencia de un desequilibrio entre la formación e inactivación de radicales de oxígeno libre. El daño oxidativo ocurre de una ambivalencia entre la formación e inactivación radicales libre de oxígeno. Este proceso que conduce a la destrucción de la membrana lipídica y la producción de lipoperóxidos. La inactivación y remoción de ROS depende de la relación antioxidante con los mecanismos de defensa. (Sepici, et al., 2006)

Varios estudios han demostrado que el estrés oxidativo, principalmente induce hiperglucemia por la generación de radicales libres, que contribuyen al desarrollo y progresión de la diabetes y sus complicaciones. (Ceriello, 2003; Rahimi et al., 2005; Tang et al., 2006) Los niveles altos (anormales) de radicales libres que causan daño en la membrana celular, que puede deberse a la peroxidación de los lípidos de la membrana, la glicación de proteínas y la declinación simultánea de mecanismos de defensa antioxidante, que conducen al daño del tejido. Las células  $\beta$  del páncreas son particularmente susceptibles al deterioro por ROS, De este modo el incremento de ROS dañan las células  $\beta$ , a través de la inducción de apoptosis y la supresión de biosíntesis de insulina. (Abdel, et al., 1997; Pushparaj, et al., 2000)

Se ha descrito que el tratamiento con diferentes antioxidantes, mejora las anormalidades metabólicas que ocurren en personas diabéticas; se ha encontrado que los antioxidantes a nivel celular reducen la formación de especies reactivas de oxígeno. Considerando que las plantas son una buena fuente de antioxidantes entre los que se pueden encontrar tocoferoles, carotenoides, ácido ascórbico, flavonoides y taninos, éstas pueden considerarse como un tratamiento para evitar complicaciones en la diabetes. Entre los grupos de antioxidantes más importantes de fuente natural se encuentran los tocoferoles, carotenoides, flavonoides, ácido ascórbico, ácidos fenólicos, (Figura 6, 7; 8 9); sin embargo los que tienen mayor actividad son los antioxidantes que



Las hierbas, las especias y los tés son los principales grupos en que se centra la investigación de los antioxidantes naturales. El hombre los ha usado desde los tiempos prehistóricos no sólo para aromatizar los alimentos, sino como antisépticos y por sus propiedades médicas. (Pokorny, 2005)

#### **4.2.2. Estudios a diferentes plantas que sugieren actividad hipoglucémica por su actividad antioxidante.**

##### **4.2.2.1. *Tamarindus indica***

García Valle en el 2004, desarrolló un experimento *in vivo* el cual se realizó con los antioxidantes que se aislaron del extracto de la semilla de *Tamarindus indica*, se sugiere que estos antioxidantes evitan la formación de peróxidos ejerciendo así un efecto hipoglucémico.

Uso tradicional del *tamarindus indica*: En Ixtlahuaca, Estado de México es utilizado como tratamiento para la diabetes mellitus tipo II, en esta zona las personas utilizan aproximadamente 8 semillas de *Tamaridus indica* trituradas y hervidas en un litro de agua, las personas la toman como agua de tiempo. (García, 2004)

Para este estudio se utilizaron 100 ratones macho (25-30 g) en ayuno de 24 hrs y con ingesta de agua *ad-Libitum*, y se formaron 10 grupos, A cada grupo se le midió la glucosa inicial y a los 30 minutos después de la administración intragástrica de los extractos.

Uno de los objetivos de este trabajo fue determinar la posibilidad de aislar el o los compuestos responsables de la actividad hipoglucémica de la semilla, con esta finalidad se separó la cáscara de la semilla.

Extracto (I) de la semilla completa

Para la evaluación experimental de la semilla del *Tamarindus indica* se utilizó 1.2056 g de semilla triturada se puso a ebullición con 120 mL de agua, hasta que se evaporó la

mitad del volumen inicial de agua. Ya fría la solución se agregó 50 mL de metanol, se filtró y se evaporó para eliminar el metanol y se ajustó a un volumen de 100 mL. (Extracto I)

Con el mismo procedimiento anterior se prepararon los siguientes extractos:

Extracto (II). Cáscara completa de la semilla (1.537 g)

Extracto (III). Fracción externa de la cáscara (0.3021 g)

Extracto (IV). Fracción intermedia de la cáscara más germen (1.0173 g)

Extracto (V). Fracción intermedia de la cáscara (0.5002 g)

Con estos 5 extractos se realizaron los bioensayos para determinar actividad hipoglucemiente.

También se preparó otro extracto (Extracto VI) de la cáscara de la semilla por el método de Soxhlet. Se partió de 27.1770 g de cáscara de semilla de tamarindo.

Por último se realizó una extracción metanólica para preparar dos extractos más a partir de 5.022 g de cáscara de semilla completa de tamarindo. De esta extracción el sólido y el filtrado se utilizaron para la preparación de los extractos (VII) y (VIII).

Extracto (VII). Para la fracción soluble metanol.

Extracto (VIII). Para la fracción insoluble en metanol.

Estos extractos también se realizó un bioensayo.

Los animales se separaron en 10 grupos de 10 animales cada uno y se les administraron los extractos de la forma siguiente:

Grupo 1 control diabético tratado con insulina (100 U/mL)

Grupo 2 control no diabético solo se le administro agua destilada (0.1)

Grupo 3 tratado con el extracto I (semilla completa)

Grupo 4 tratado con el extracto II (cáscara completa de la semilla)

Grupo 5 tratado con el extracto III (fracción externa de la cáscara)

Grupo 6 tratado con el extracto IV (fracción intermedia de la cáscara más germen)

Grupo 7 tratado con el extracto V (fracción intermedia de la cáscara)

Grupo 8 tratado con el extracto VI (Extracto metanólico de la cáscara)

Grupo 9 tratado con el extracto VII (fracción soluble en metanol de la cáscara)

Grupo 10 tratado con el extracto VIII (fracción insoluble en metanol de la cáscara)

La administración de los extractos se realizó por vía intragástrica. Después de esta, se probó la actividad hipoglucémica de cada fracción y se comparó con la actividad de la semilla completa.

A los grupos I, II y III se les midió la concentración de glucosa antes y a los 30 minutos después de la administración del extracto I a dos diferentes concentraciones y los resultados obtenidos son los siguientes:Tabla 7

**Tabla 7. Concentración de glucosa en mg/dL**

Extracto	[Concentración]	Glucosa inicial (T=0)	Glucosa final (T=30 min)
I	0.1 mg/mL	70	50
	0.3 mg/mL	70	23
II	0.1 mg/mL	70	70
	0.3 mg/mL	70	40
III	0.1 mg/mL	70	70
	0.3 mg/mL	83	83

(García, 2004)

El extracto I (semilla completa) a la concentración de 3 mg/dL mostró un mayor efecto hipoglucémica con respecto a los extractos I y III en las dos diferentes concentraciones. También se puede observar que hay una disminución en la actividad del extracto II (cáscara completa de la semilla) con respecto al extracto I. Existe la posibilidad que haya una relación entre la cáscara y el germen.

Al comparar los resultados obtenidos de los extractos I, II y III, con los grupos controles diabético (1) tratado con insulina y no diabético (2), se observó que la glucosa en el grupo 1 disminuye en un 42.9%, mientras que el grupo 2 no presentó cambio alguno, y

el grupo 3 que se trato con el extracto I presentó una disminución de 28.6% a la primera concentración que es de 0.1 mg/mL.

Al observar que en la cáscara existe actividad hipoglucémica se realizó un nuevo experimento usando la cáscara interna más el germen (extracto IV) y la cáscara interna (extracto V). Utilizando tres diferentes concentraciones: 1, 3 y 5 mg/mL.

Los resultados no mostraron efecto hipoglucémico (Tabla 8) en ninguno de los dos extractos, al contrario se provoco una hiperglucemia en las diferentes concentraciones de los dos extractos.

**Tabla 8. Concentración de glucosa mg/dL**

Extracto	[Concentración]	Glucosa inicial	Glucosa final
IV	1 mg/mL	70	110
	3 mg/mL	70	110
	5 mg/mL	70	110
V	1 mg/mL	70	110
	3 mg/mL	70	110
	5 mg/mL	70	97

(García, 2004)

Analizando los resultados, los hidratos de carbono de la semilla se encuentran probablemente en la fracción interna de la cáscara (extracto V), ya que en esta fracción el aumento de glucosa es semejante al del extracto IV.

Para localizar el o los compuestos responsables de la actividad hipoglucémica en la cáscara completa de la semilla, se realizaron los siguientes experimentos con fracciones preparadas por extracción con disolventes orgánicos. El extracto VI y extracto VII se preparo a partir de la cáscara desengrasada. Posteriormente estos extractos se administraron a los ratones a dos diferentes concentraciones para determinar su actividad, mostrando los siguientes resultados:

**Tabla 9. Concentración de glucosa en mg/dL**

Extracto	[Concentración]	Glucosa inicial	Glucosa final
VI	0.88 mg/mL 0.148 mg/mL	103.4 96.6	73.3 70.0
VII	0.525 mg/mL 1.2 mg/mL 1.9 mg/mL	116.6 70.0 70.0	96.6 53.3 43.3
VIII	0.24 mg/mL	86.7	60.0

(García, 200)

El extracto VI (extracto metanólico), presentó un mayor efecto hipoglucémico a la concentraciones administradas.

El extracto que mostro un mayor efecto hipoglucémico fue el extracto VII (soluble en metanol), que solo se probó en ratones sanos a una concentración de 1.75 mg/mL presentó una actividad hipoglucemiante significativa del 38.1%.

#### 4.2.2.1.1. Evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante de los extractos:

**acetato de etilo y metanólico:** Obtención de antioxidantes de la cáscara de la semilla de *Tamarindus indica*: De 4 kg de vainas de *Tamarindus indica*, se separaron las semillas y se sometieron a hidratación para separar la cascara, ya separada la cáscara se seco. Se pesaron 307.48 g de cáscara de la semilla y se sometió a extracción continua en Soxhlet, empleando primeramente hexano posteriormente acetato de etilo y por último metanol. Una vez que se obtuvieron los extractos crudos se procedió a realizar las evaluaciones cuantitativas de actividad antioxidante.

Se utilizó ácido linoleico como sistema, BHT y  $\alpha$ -tocoferol como controles. Se adicionaron 0.182 mL de ácido linoleico y 14 mL de etanol, más una solución buffer de fosfatos, el volumen se ajusto a 35 mL con agua destilada, a esta mezcla se le adicionaron 0.3 mg del extracto control, posteriormente la mezcla se incubó a 40° C en baño maría por 10 días, tomando una muestra a los 5 días, para medir índice de

peróxidos. Después de transcurrido ese tiempo se realizó la prueba para medir el índice de peróxidos, se colocaron 5 mL de la muestra en un matraz y se le adicionaron 25 mL de una solución de ácido acético/diclorometano (3:2), una vez disuelto se le adiciona 1 mL de solución saturada de KI, después se añaden 75 mL de agua destilada y se procede a titular con tiosulfato de sodio 0:1 N. Se utilizó almidón como indicador, mostrando los siguientes resultados a los 5 y 10 días: Tabla 10

**Tabla 10. Medida de índice de peróxidos**

Extracto	IP 5 días	IP 10 días
Control (-)	100 ± 5.7	100 ± 3.7
Acetato de etilo	11.5 ± 1.91	18.5 ± 0.63
Metanol	45.5 ± 1.66	68.5 ± 2.34
Vit E	8 ± 0.14	10 ± 0.13
BHT	ND	4 ± 0.41

IP = Índice de peróxidos, BHT = butilhidroxitolueno, ND = no detectado

A los cinco días el sistema con el extracto de acetato de etilo, mostró un alto poder antioxidante, con respecto al control negativo y al extracto metanólico, ya que este retarda el deterioro oxidativo en un 88.5%, mientras que el extracto metanólico tan solo retarda 54.5 %. A los 10 días se observa que el sistema con el extracto en acetato de etilo, continua retardando la formación de peróxidos pero ahora en un 81.5 %, el extracto metanólico tan solo retarda el 31.5 %.

Observando al antioxidante Vitamina E a los cinco días, retarda el 92 % la formación de peróxidos, parecido al extracto en el acetato de etilo. Mientras que el BHT es el que presenta mayor poder antioxidante, ya que a los 5 días en el sistema no hay deterioro. Para la vitamina E a los diez días, la formación de peróxidos es de 10 %, y en el sistema con BHT comienza el deterioro. Para que el extracto de acetato de etilo tenga la misma actividad que el BHT, se requeriría de una mayor concentración, ya que el BHT a los 5 días es 12 veces más efectivo que el extracto de acetato de etilo, y a los 10 días es de 14 veces. No existe una diferencia significativa entre la vitamina E y el extracto de acetato de etilo.

En conclusión el extracto acuoso de la semilla (extracto I) a diferentes concentraciones presenta mayor actividad que los extractos similares de la cáscara. En esta investigación experimental también incluyó la determinación de capacidad antioxidante de los extractos de la cáscara de la semilla de *tamarindus indica*.

Se ha visto que personas con diabetes mellitus tipo II muestran incremento en el estrés oxidativo, porque incrementan la formación de radicales libres, siendo estos los causantes de complicaciones en la enfermedad. Se determinó la capacidad antioxidante de la cáscara de la semilla de tamarindo, probándose efecto antioxidante. (García, 2004)

#### **4.2.2.2. Evaluación antidiabética de *Rosmarinus officinalis*.**

Por otra parte la cocción en agua de las hojas de *Rosmarinus officinalis* es usada tradicionalmente por pacientes diabéticos, especialmente en el oeste de Turkia. Por su alto contenido de antioxidantes y de compuestos fenólicos, *Rosmarinus officinalis* es muy aceptado. Debido a ello esta planta es usada en la industria de los alimentos, ya que previene la degradación oxidativa en aceites y lípidos que contienen los alimentos. *Rosmarinus officinalis* es reconocido por tener moléculas antioxidantes como ácido rosmarínico, carnosol, etc.

Tulay en 2007 valoró la actividad antioxidante de *Rosmarinus officinalis*, para el cual utilizó las hojas secas y pulverizadas de la planta y se sometieron a extracción por el método de Soxhlet con etanol al 95% a T= 50°C por 12 h, transcurrido el tiempo el extracto se liofilizo y se utilizó para dos bioensayos.

Para el primer modelo biológico que plantearon los autores se utilizaron conejos adultos no diabéticos, se dividieron en 5 grupos de 7 conejos cada uno.

Grupo 1: solo recibió agua destilada (grupo control)

Grupo 2: recibió glibenclamida (fármaco de referencia).

El extracto de la planta se suspendió en un vehículo (agua destilada) y fue administrado oralmente a tres diferentes dosis:

Grupo 3: dosis del extracto a 50 mg/Kg

Grupo 4: dosis del extracto a 100 mg/Kg

Grupo 5: dosis del extracto a 200 mg/Kg

Las muestras de sangre se colectaron antes, a la primera hora, segunda y después de 6 horas de la administración de los extractos, para medir los niveles de glucosa e insulina.

Los efectos en los niveles de glucosa en sangre de varias dosis del extracto de *Rosmarinus officinalis* en los conejos normoglicémicos fueron los siguientes: El grupo control 1 (solo recibió el vehículo) fue aumentando gradualmente del tiempo cero de 118 mg/dL hasta la sexta hora con 124 mg/dL. El grupo 2 (Glibenclamida), disminuyó desde la primera hora de la administración del extracto, teniendo un valor inicial de 120 mg/dL y final de 80 mg/dL. El extracto que mostró un mayor efecto hipoglicémico fue la concentración del extracto de 200 mg/kg, con un valor en el tiempo cero de 106 mg/dL y con un valor a la sexta hora de 105 mg/dL de glucosa.

Los resultados de los niveles de insulina en suero de los conejos normoglicémicos fueron los siguientes: En el grupo I control disminuyó de 13.81  $\mu$ IU/mL a 12.2  $\mu$ IU/mL, en el grupo 2 (glibenclamida) aumentó significativamente respecto del tiempo cero que fue de 13.7  $\mu$ IU/mL al final con 17.58  $\mu$ IU/mL, la concentración de extracto que mayor elevación de insulina obtuvo fue la de 200 mg /kg que en el tiempo cero es de 14.24  $\mu$ IU/mL y a la sexta hora es de 16.17  $\mu$ IU/mL.

Para el segundo bioensayo se utilizaron conejos inducidos a diabetes y también se formaron 5 grupos de 7 conejos cada uno.

Grupo 1: (control) solo recibió el vehículo (agua destilada) de forma oral

Grupo 2: recibió glibenclamida suspendida en el vehículo,

Grupo 3: dosis del extracto a 50 mg/Kg

Grupo 4: dosis del extracto a 100 mg/Kg

Grupo 5: dosis del extracto a 200 mg/Kg

Se tomaron muestras de sangre como en el caso de los conejos normoglicémicos. Los resultados que se obtuvieron en los niveles de glucosa en sangre después de la administración del extracto de *Rosmarinus officinalis* a diferentes dosis a los conejos inducidos a diabetes fueron los siguientes: El grupo 1 control mostró variaciones en los diferentes tiempos, al tiempo cero su valor fue de 421 mg/dL, en la primera hora de 432 mg/dL, en la segunda hora de 411 mg/dL y la sexta hora de 387 mg/dL. El grupo 2 (glibenclamida) al tiempo cero es de 409 mg/dL, a la primera hora de 424 mg/dL, a la segunda hora de 314 mg/dL y la sexta hora de 266 mg/dL. El extracto a una concentración de 200 mg/kg que fue administrado al grupo 5 mostró tener un mayor efecto hipoglucémico teniendo un valor al tiempo cero de 383 mg/dL y al final de 277 mg/dL.

En lo que respecta a los niveles de insulina en suero, los conejos inducidos a diabetes mostraron los siguientes valores: El grupo control 1 al tiempo cero su valor fue de 5.98  $\mu\text{IU/mL}$  y a la sexta hora de 6.19  $\mu\text{IU/mL}$ , El grupo 2 (glibenclamida) al tiempo cero tiene un valor de 5.90  $\mu\text{IU/mL}$  y al final de 10.88  $\mu\text{IU/mL}$ . La concentración del extracto de 200 mg/kg que se administró al grupo 5 resultó con un mayor incremento en el nivel de insulina en suero, esta fue en el tiempo cero de 6.21  $\mu\text{IU/mL}$  y al final de 9.92  $\mu\text{IU/mL}$ .

Estimación de antioxidantes. Se midió la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), de la catalasa (CAT) y la reactividad de la molonaldehído (MDA) en suero de los conejos diabéticos, fue monitoreado al primer, tercer, quinto y octavo día después de la administración de las pruebas muestra. El grupo control (vehículo) mostró un actividad de MDA similar en los cuatro días de su valoración. El grupo diabético control registró un ligero incremento del primer día al octavo 9.27 a 9.64 nmol/mL. El grupo diabético

que recibió glibenclamida tuvo una disminución del primer día al octavo, que va de 8.62 a 7.56 nmol/mL. El grupo que registró un descenso más significativo en cuanto a la actividad de MDA fue el que recibió concentración de 200 mg/Kg, siendo de 8.90 y de 6.43 nmol/mL al primer y octavo día respectivamente.

En cuanto a la actividad de la SOD el grupo control se mantuvo prácticamente igual al primer y octavo día 85.39 y 86.17 U/mL respectivamente. El grupo diabético control fue al primer y octavo día de 60.31 y 62.63 U/mL respectivamente. Los grupos tratados con el extracto que mostraron mayor actividad de SOD fueron los que recibieron las concentraciones de 5 mg/kg que al primer día fue de 57.25 U/mL y al octavo de 75.37 U/mL, y los que recibieron 200 mg/kg que al primer y octavo día fue de 58.83 y 78.31 U/mL respectivamente.

Los resultados de la actividad de la catalasa (CAT) en el grupo control fueron los siguientes al primer día 55.72 kU/l y al octavo de 59.12 kU/l. El grupo control diabético al primer día fue de 31.44 kU/l y al octavo de 39.84 kU/l. El grupo que recibió la glibenclamida mostro un incremento significativo de la actividad CAT y este fue, al primer día 30.84 kU/l y al octavo de 51.39 kU/l. El grupo que recibió una concentración del extracto de 200 mg/kg mostró tener un aumento de la actividad de CAT significativo, el primer día el valor fue de 29.50 kU/l y al octavo de 53.94 kU/l.

En conclusión las observaciones mostraron claramente que el extracto de *Rosmarinus officinalis* a la concentración de 200 mg/Kg ejerce una actividad hipoglucémica muy similar a los valores que mostró el fármaco estándar, además de determinarse que el extracto tiene la capacidad de inhibir la peroxidación lípidica y activa las enzimas antioxidantes (SOD y CAT) en la diabetes. (Bakirel et al, 2007)

#### **4.2.2.3. Actividad antidiabética de *Camellia sinensis* (Té verde.)**

Otra de las plantas muy conocidas comercialmente por sus supuestos beneficios a la salud, es el té verde, en este experimento se valoró su actividad hipoglucémica como consecuencia de su alto contenido de compuestos antioxidantes.

En la manufactura el té verde consigue la inactivación enzimática conservando los polifenoles naturales los cuales tienen propiedades benéficas para la salud. El té verde en líquido o polvo tiene una proporción variable de polifenoles: 45 a 90 % y cafeína de 0.4 a 10 %. El *té verde* es un potente antioxidante que contiene catequinas poderosas que atrapan oxígeno activo; así mismo reduce la formación de peróxidos, y es más efectivo que el  $\alpha$ -tocoferol. En este estudio Sabu y otros investigadores investigaron el efecto polifenólico del té verde el cual reduce el daño oxidativo en ratas inducidas a diabetes.

Preparación de la fracción de polifenoles del té verde: El polvo seco del té verde (250 g) fue extraído con agua, y la fracción soluble en agua fue disuelta en agua caliente y lavada con cloroformo. El extracto acuoso se separó y fue extraído con etil acetato, una fase contenía los polifenoles y se evaporó el cloroformo. El extracto se suspendió en agua y fue usado para los experimentos.

Actividad antidiabética: Para esta prueba (aguda) los investigadores utilizaron ratas macho no diabéticas de 250 a 300g de peso en ayuno de toda la noche, se formaron 3 grupos de 6 animales cada uno, los cuales fueron tratados de forma oral:

Grupo 1 control (solo recibió agua destilada oralmente)

Grupo 2 recibió una concentración 100 mg/Kg del extracto

Grupo 3 una concentración del extracto de 500 mg/Kg del extracto

Inmediatamente después se administró a los tres grupos glucosa (2 g/Kg), también de forma oral. Posteriormente se tomaron muestras de sangre a los tiempos: 60, 120 y 240 minutos, después de la administración de glucosa, para valorar los niveles de glucosa en sangre. Los resultados obtenidos en los niveles de glucosa, la concentración que mostró una disminución más significativa a los tres tiempos determinados después de la carga de glucosa, fue la de 500 mg/Kg a un por debajo de los valores que mostró el

grupo control. Posteriormente se realizaron otras pruebas para descubrir el mecanismo de acción de esta planta.

**4.2.2.3.1. Efecto de los polifenoles en los niveles de glucosa en ratas inducidas a diabetes:** Para esta prueba (sub-aguda) los animales que mostraron valores de glucosa superiores a 250 mg/dL fueron considerados diabéticos y se formaron 4 grupos de 6 animales cada uno y se trataron de la siguiente manera:

Grupo 1 control no diabético (1 mL de agua)

Grupo 2 control diabético (1 mL de agua)

Grupo 3 diabético (50 mg/Kg de extracto)

Grupo 4 diabético (100 mg/Kg de extracto)

El efecto de los polifenoles en las ratas diabéticas: Una sola administración del extracto (50 mg/kg) al tercer día de ser inducidas a diabetes, no produjo una reducción significativa de los niveles de glucosa, con la dosis de 100 mg/Kg se obtuvo un reducción del 17.3% en el nivel de glucosa en la sexta hora y la actividad se redujo en las siguientes horas.

**4.2.2.3.2. Actividad antioxidante *in-vivo*:** Se determinó la actividad de la búsqueda de radicales superóxido por el método de reducción del Nitroazul tetrazoleo. Después de ayuno por toda la noche, se colectaron las muestras de sangre antes y a la segunda, cuarta, sexta y octava hora después de la administración de 100 mg/kg del extracto para medir los niveles de glucosa. Este estudio también se realizó durante 15 días y se midieron los niveles de glucosa al 6, 9, 12 y 15 día. Los radicales de oxígeno producidos en el cuerpo de las ratas inducidas a diabetes, el cual causa daño pancreático es el responsable del incremento de glucosa en sangre, en estos animales sin embargo no se encontró daño en órganos como hígado, riñón y sistema hematopoyético después de la administración del extracto del té verde. El estudio indicó que en diabetes inducida y una subsecuente elevación de la glucemia en sangre, fue reversible al administrar el extracto del té verde. En condiciones *in vivo*, la glutatión

peroxidasa que actúa como antioxidante y disminuye la glucosa en sangre en pacientes diabéticos. El incremento de la glutatión peroxidasa contenido en el hígado de las ratas tratadas con los polifenoles del té verde es uno de los factores responsables para la inhibición de la peroxidación lipídica. La superóxido dismutasa y la catalasa son las principales enzimas para remover radicales libres *in vivo*. Las ratas tratadas con el extracto del té verde disminuyeron la peroxidación lipídica asociada con el incremento de la actividad de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa. En conclusión la administración oral del té verde reduce la tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas inducidas y aumenta el efecto antioxidante. (Sabu, et al., 2002)

**4.2.2.3.3. Actividad antioxidante *in vitro*:** se determinó después de 18 días de la administración del extracto. Todos animales de la prueba sub-aguda (diabéticos y no diabéticos) se sacrificaron inmediatamente después del periodo experimental, se extrajo el hígado para medir la actividad de la peroxidación lipídica, de la catalasa, de la superóxido dismutasa, la glutatión y la glutatión peroxidasa. Los niveles de la superóxido dismutasa en el grupo no diabético fue de 14.6 U/mg<sub>de proteína</sub>. El grupo control diabético de 9.7 U/mg<sub>de proteína</sub> y los grupos tratados con el extracto de 50 y 100 mg/kg fue de 9.3 U/mg<sub>de proteína</sub> y 16.4 respectivamente. La catalasa también aumentó en la concentración del extracto de de  $6.3 \times 10^{-3}$  U (50 mg/Kg) a  $7.8 \times 10^{-3}$  U (100 mg/Kg). En cuanto a la peroxidación lipídica, la catalasa y la glutatión peroxidasa no se mostraron cambios significativos. Los polifenoles del té verde, atraparon el superóxido generado por la fotorreducción de la riboflavina a una concentración dependiente. La concentración necesaria para atrapar el 50% de superóxidos fue de 10 µg/mL. La concentración necesaria para inhibir el 50% del radical hidroxilo fue de 52.5 µg/mL.

**4.2.2.3.4. Actividad de la búsqueda del radical hidroxil:** La actividad de la búsqueda del radical hidroxil fue medida por el estudio de la competencia entre la desoxiribosa y la prueba de compuestos por la generación de radicales hidroxil desde el sistema  $\text{Fe}^{3+}/\text{EDTA}/\text{H}_2\text{O}_2$ . El radical hidroxil ataca a la desoxiribosa. La mezcla de reacciones de desoxiribosa,  $\text{FeCl}_3$ , EDTA,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ácido ascórbico, el buffer y las diferentes concentraciones del extracto (25 – 400 µg/mL), se llevaron a un volumen final de 1 mL,

la mezcla de reacciones se incubó durante una hora a 37 °C. Se midió la degradación de la desoxiribosa, de TBARS y se calculó el porcentaje de inhibición.

**4.2.2.3.5. Actividad de la búsqueda de peróxido lipídicos:** La mezcla de reacción (0.5 mL) contiene hígado de rata (0.1 mL) en HCl, KCl, hierro y ácido ascórbico; la mezcla se incubó por una hora a 37 °C, con la presencia y ausencia del extracto (20 – 180 µg/mL). El peróxido lipídico se midió por la formación de TBARS. La peroxidación lipídica inducida por el Fe<sup>2+</sup> /ascorbato en el hígado, para inhibir el 50% de la inhibición fue de 136 µg/mL.

#### **4.2.2.4. Efecto de la actividad antioxidante de *Myrtus communis*:**

Otra de las plantas (hojas) que también ejerce un efecto antihiper glucémico es *Myrtus communis*. Estudios previos describen el efecto antidiabético del aceite de esta planta. En este estudio Sepici y demás investigadores en 2006 evaluaron el efecto antioxidante del extracto en conejos inducidos a diabetes. Este estudio se enfocó a la determinación del efecto del aceite de la planta como un mejor antioxidante, incluyendo la superóxido dismutasa y la catalasa y el parámetro de degradación de productos lipoperoxidativos semejantes al ácido tiobarbitúrico, nitrato y nitrito en tejido del hígado de conejos inducidos a diabetes.

Se utilizaron conejos adultos de entre 1800 y 2800g. El aceite de las hojas de *Myrtus communis* se administró a los animales por medio de un inyector en la boca a cada conejo, para esta investigación se realizaron dos experimentos: uno para el estudio agudo que duró 4 h y el otro para el estudio sub-agudo que duró 21 días para el cual se formaron 4 grupos de 11 conejos cada uno:

Grupo 1: control no diabético recibió agua destilada

Grupo 2: control diabético recibió agua destilada

Grupo 3: diabético recibió el aceite de la planta a 50 mg/Kg (prueba aguda)

Grupo 4: diabético recibió el aceite de la planta a 50 mg/Kg (prueba sub-aguda)

Para el estudio sub-agudo a los animales se les administro el extracto una vez al día durante los 21 días que duró el experimento. Los niveles de glucosa se cuantificaron diariamente a todos los grupos (Tabla 11). Pasado el tiempo de experimentación, tanto en el estudio agudo (4 h) como en el estudio sub-agudo (21 días), los animales fueron sacrificados y el hígado fue extirpado y aislado para posteriores pruebas. El ensayo arrojó los siguientes resultados:

Tabla 11 Niveles de glucosa (pba aguda y sub-aguda)

Grupos	Glucosa mg/dL
1	101.64
2	205.47
3	104.53
4	95.23

(Sepici, et al., 2006)

Para el estudio in vitro se realizaron las siguientes pruebas:

**4.2.2.4.1. Prueba del malonaldehído:** El tejido del hígado fue homogeneizado con KCl 1.5%. A 3 mL de ácido fosfórico al 1% se le agrego 1 mL de ácido tiobarbiturico (TBA) al 0.6 % esta solución se la añadió 0.5 mL del homogeneizado del tejido del hígado. Esta mezcla se calentó durante 45 minutos y posteriormente se enfrió, y por último se le añadió 4mL de *n*-butanol. La absorbancia se midió a 535 y 520 nm. La diferencia de estas mediciones es el valor de la malonaldehído (nmol/g <sub>tejido</sub>). El efecto hepático en los niveles de la malonaldehído en el grupo control y en los grupos con tratamiento del extracto: En los grupos diabéticos la malonaldehído en el tejido del hígado incrementó significativamente comparada con los grupos control. La administración de 50 mg/kg del extracto en el estudio agudo incrementó significativamente en el tejido los niveles de la malonaldehído y después de 21 días del tratamiento los niveles disminuyeron.

**4.2.2.4.2. Actividad de la superóxido dismutasa (SOD):** Este ensayo se basó en medir el efecto de la SOD en la velocidad inicial de auto-oxidación de la 6-hidroxiopamina. El tejido del hígado se preparó con una serie de compuestos con el fin

de medir la absorbancia y determinar la actividad que fue expresada en porcentaje de inhibición de auto-oxidación en la muestra. Los resultados no registraron diferencias significativas en la actividad de la enzima SOD en el grupo control más el tratamiento con *Myrtus communis* después de 21 días, comparado con el grupo de la prueba aguda 4 h el primero registro un valor de 459.69 y el segundo de 460.64 en unidades de U/mg de proteína.

**4.2.2.4.3. Actividad de la catalasa:** La catalasa ejerce una función dual, en la descomposición del  $H_2O_2$  produciendo  $H_2O$  y  $O_2$ , y la oxidación de H. En el rango ultravioleta  $H_2O_2$  mostrando un continuo incremento en la absorción con la disminución de la longitud. La descomposición del  $H_2O_2$  sigue una disminución en la absorbancia a 240 nm. La actividad de la catalasa se expreso en unidades de (k)/mg de proteína. La actividad de la catalasa disminuyó considerablemente después de 21 días del tratamiento en el grupo control mas el aceite del extracto (50 mg/Kg) y en ambos grupos diabéticos tanto el control como el que recibió el tratamiento de las hojas de *Myrtus communis*, en el estudio agudo no mostraron efectos significativos en la actividad de la catalasa pero se observó un incremento significativo a los 21 días del tratamiento.

**4.2.2.4.4. Ensayo del nitrito – nitrato:** El tejido del hígado se homogeneizó con agua destilada y el sobrenadante se incubó en una solución de NaOH por 5 min; después se le adicionó  $ZnSO_4$ , se homogeneizó y centrifugó. El sobrenadante se removió para realizar el ensayo. El nitrato es reducido a nitrito por la NADHP en presencia de la enzima nitrato reductasa. El colorante diazo es medido por la absorbancia en un rango visible a 540 nm. La concentración de proteína en la fracción del sobrenadante se determinó por el método de Lowry. Efectos hepáticos de los niveles de nitrito-nitrato en el grupo control, en el diabético y en los grupos tratados con el aceite del extracto: En el grupo control con el tratamiento del extracto (50 mg/Kg), los niveles de nitrito-nitrato disminuyeron significativamente después de 21 del tratamiento, así como en el estudio agudo. En los grupos diabéticos los niveles de nitrito-nitrato se incrementaron significativamente comparados con el grupo control.

La tabla 12 muestra los resultados obtenidos de las pruebas de la actividad enzimática:

**Tabla 12 Niveles de actividad enzimática del estudio de *Myrtus communis***

Grupos	SOD 4 hrs	SOD 21 días	Catalasa 4 hrs	Catalasa 21 días	MDA 4 hrs	MDA 21 días	Nitrato- nitrido 4 hrs	Nitrato- nitrito 21 días
1. Control	456.85	457.94	0.303	0.343	41.86	41.99	51.15	51.76
2. Control+ extracto	459.69	460.64	0.295	0.296	41.83	42.42	48.92	49.96
3. Diabetes	267.82	259.83	0.173	0.176	81.13	81.70	166.17	167.58
4. Diabetes+ extracto	271.36	393.01	0.178	0.285	82.70	63.92	128.92	111.25

Superoxido dismutasa (SOD) (U/mg proteína), actividad catalasa (CAT) (K/mg proteína), actividad de malonaldehído (MDA) (nmol/g tejido), niveles de nitrato-nitrito  $\mu\text{mol/g}$  tejido. (Sepici, et al., 2006)

Los resultados demostraron que el aceite de *Myrtus communis* ejerce una remarcable actividad hipoglucémica en los animales diabéticos fuera de una aparente toxicidad, lo cual confirma la utilización tradicional. Después de 21 días de tratamiento se observó que el aceite de *Myrtus communis* posee la capacidad de inhibir la peroxidación en la diabetes. Bajo condición de diabetes los radicales libres semejantes a  $\text{O}_2$  y no producen resultados de inducción a la reacción de glicación en las células  $\beta$  del páncreas causando efectos de estrés oxidativo en diabéticos. Se sugiere que el aceite de la planta de *Myrtus communis* protege altamente contra el estrés oxidativo. (Sepici, et al., 2006)

#### **4.2.2.5. Actividad antioxidante de *Panax ginseng*:**

*Panax ginseng* es otra de las plantas que ha ganado popularidad por sus propiedades farmacológicas y es de gran valor en el Este de Asia. Las hojas de *Panax ginseng* son consumidas comúnmente en forma de té. Se cree que las saponinas presentes en el *ginseng* juegan un rol importante en la actividad antioxidante en animales modelo, Chang-Hwa (2004) realizó una investigación para valorar el efecto antioxidante de esta planta, y desarrollo el siguiente procedimiento.

Para este estudio las hojas de *panax ginseng* silvestre se deshidrataron, se pulverizaron y el extracto se extrajo por el método de reflujo (dos veces) con agua a

90°C. Finalmente el extracto fue disuelto con agua destilada para administrar en forma oral a las ratas que fueron previamente inducidas a diabetes. Se utilizaron ratas macho de aproximadamente 250 g y se formaron cinco grupos:

Grupo 1: control de ratas no diabéticas

Grupo 2: ratas sanas más extracto a 200 mg/Kg

Grupo 3: diabético sin tratamiento

Grupo 4: diabético más el extracto a 40 mg/Kg

Grupo 5: diabético más el extracto a 200 mg/Kg

El estudio duró 4 semanas. Las determinaciones que se llevaron a cabo en el estudio fueron: niveles de glucosa en sangre y sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) en suero.

El resultado que mostró el efecto del extracto de *Panax ginseng* (Tabla 13), fue que los niveles de glucosa en sangre disminuyeron en las ratas diabéticas que recibieron una concentración del extracto de 40 mg/Kg, pero la disminución más significativa se mostró en el grupo que se les administró una concentración del extracto de 200 mg/Kg. El grupo normal que recibió el extracto a una dosis de 200 mg/Kg no se registraron cambios significativos en los niveles de glucosa, el grupo diabético que no recibió el extracto como era de esperarse los niveles de glucosa se elevaron de forma significativa después de las cuatro semanas del estudio.

Los niveles de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico aumentaron significativamente en el grupo diabético que no recibió el extracto (Tabla 13). Efectos de la suplementación del extracto de *Panax ginseng* en la actividad de enzimas antioxidantes y así como de las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico en ratas: La actividad antioxidante en hígado, riñón y bazo es normal en los grupos diabéticos. En general, los grupos normales mantuvieron una mayor actividad enzimática que los grupos diabéticos. Aunque la administración diaria de 40 mg/Kg y 200 mg/kg durante las 4 semanas no recuperaron completamente la actividad enzimática como la detectada en los grupos normales. La suplementación con el extracto de las hojas de la

planta parece jugar un rol en la recuperación en los grupos diabéticos. La TBARS en cada órgano se incremento de un 25 a 40%. En los tejidos de los órganos de los grupos diabéticos las TBARS se fueron reduciendo por la administración del extracto de *Panax ginseng*.

**Tabla 13 Efecto de la suplementación del extracto en los niveles de glucosa en sangre y TBARS**

	Gpo 1 control no diabético	Gpo 2 no diabético+ 200 mg/kg extracto	Gpo 3 control diabético	Gpo 4 diabético + 40 mg/kg extracto	Gpo 5 diabético+ 200 mg/kg extracto
Glucosa inicial	100.38	106.73	338.67	334.90	343.33
Glucosa final	106.00	101.33	464.68	266.00	239.68
TBARS inicial	0.114	0.114	0.178	0.174	0.162
TBARS final	0.114	0.115	0.234	0.170	0.174

Glucosa mg/dL, (Chan, et al., 2004)

El motivo de la suplementación del extracto de las hojas de *Panax ginseng* es que causa reacciones antioxidantes y atrapa radicales libres, lo que resulta en una disminución en la síntesis de sustancias reactivas de oxígeno y su acumulación. (Chang, et al., 2004)

#### **4.2.2.6. Evaluación antioxidante de *Annona squamosa*:**

La *Annona squamosa* es un fruto comestible nativo de la India, con un alto valor nutricional con la propiedad de bajar los niveles de glucosa en sangre, las hojas y las semillas se usan para el tratamiento de la diabetes y sus complicaciones. Esta es otra de las plantas con la cual se realizó una investigación para evaluar el potencial antioxidante en modelos diabéticos tipo II.

Para esta investigación Kumar y colaboradores en 2008 prepararon extracto de las hojas de *Annona squamosa* (500 g) hierviendolas hojas frescas con agua durante 2 h y el extracto fue concentrado hasta la mitad del volumen inicial. El extracto se filtró y centrifugó, el sobrenadante se concentro en un rotavapor a presión reducida, y por último el concentrado se liofilizo produciendo 50 g de extracto y fue utilizado para el estudio.

Se utilizaron ratas de 180 a 200 g que se indujeron a diabetes con estreptozotocina y se formaron 4 grupos de 6 ratas cada uno:

Grupo 1 control diabético no tratado con el extracto

Grupo 2 de ratas diabéticas tratadas con el extracto a 350 mg/Kg

Grupo 3 control de ratas no diabéticas no tratadas

Grupo 4 con ratas no diabéticas tratadas con el extracto a 350 mg/Kg

La dosis más efectiva ya demostrada en estudios previos es de 350 mg/Kg, que les fue administrada oralmente a los grupos 2 y 4 una vez por día durante 30 días que duro el estudio, después de ese tiempo las ratas fueron sacrificadas y la sangre fue colectada inmediatamente. El cerebro, pulmón, corazón, hígado, páncreas, bazo y riñón fueron removidos inmediatamente y sumergidos en solución salina.

**4.2.2.6.1. Ensayos bioquímicos:** Se peso una cantidad de los tejidos (que fueron removidos) que fue homogeneizada con una solución buffer. El homogeneizado fue usado para medir la actividad de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y peroxidación lípidica. Los animales tratados con el extracto de las hojas mostraron una disminución significativa en la peroxidación lípidica asociada con el incremento de la actividad de la catalasa y la superóxido dismutasa.

La glutatión mostró una importante inhibición de radicales libres. La disminución en los niveles de la glutatión, glutatión reductasa y la glutatión transferasa en la diabetes puede resultar por el incremento en el atrapamiento de radicales de oxígeno. La glutatión reductasa es un enzima importante responsable de la regeneración de la glutatión. Se observó un aumento en los niveles de la glutatión y de glutatión reductasa en ratas normales tratadas y las diabéticas también tratadas con el extracto comparadas con el grupo control no tratado diabético y no diabético, el mismo efecto se obtuvo en los niveles de la glutatión transferasa, en el grupo normal tratado y en el

grupo diabético tratado con el extracto, aumento el nivel de la glutatión transferasa en los tejidos de hígado, páncreas y riñón.

La peroxidación lípidica es inducida por los radicales libres principal proceso del deterioro oxidativo de ácidos grasos poli-insaturados. El extracto acuoso disminuyó considerablemente los niveles de la malonaldehído en las ratas diabéticas en comparación con el grupo diabético control. La evidencia es abrumadora del daño a consecuencia del estrés oxidativo en el experimento causado por la sobre producción y/o la remoción insuficiente de las especies reactivas de oxígeno. Por lo tanto es muy comprensivo prevenir la generación de estas especies reactivas. (Kumar, et al., 2008)

### **4.3. INHIBICION DE LA GLUCONEOGENESIS**

En la búsqueda de confirmar el efecto hipoglucémico de las plantas que se utilizan en la medicina tradicional, se han hecho diversas investigaciones científicas para confirmar dicho efecto y dilucidar sus mecanismos de acción.

Ciertos tejidos como el cerebro dependen fuertemente de la glucosa como fuente de energía. Debido que la toma de alimentos es intermitente; el hígado provee glucosa para su utilización en el tejido periférico entre comidas manteniendo las concentraciones de glucosa circulante en 100 mg/dL. El hígado genera glucosa por dos vías: libera glucosa a partir de las reservas de glucógeno (glucogénesis) y genera glucosa de novo a partir de pequeños precursores tricarbonados (gluconeogénesis). Las contribuciones de la glucogénesis y gluconeogénesis sobre todo la producción hepática varía dependiendo de las condiciones fisiológicas (por ejemplo en ayuno) y están influenciadas por hormonas y disponibilidad de sustrato (Ross, et al., 200; Wu, et al., 2005)

La ingesta de hidratos de carbono dispara la secreción de insulina por parte de las células  $\beta$  del páncreas. Además, para estimular la producción de la captación de glucosa en músculo esquelético y tejido adiposo, la insulina inhibe la producción

hepática de glucosa. En la diabetes mellitus tipo II la habilidad de la insulina para suprimir la producción hepática de glucosa está dañada (insulino resistencia hepática), esto aunado a la sobreproducción hepática de glucosa, contribuyen al estado hiperglucémico en pacientes con esta enfermedad (Wu, et al., 2005).

Durante los períodos de ayuno el glucógeno almacenado en el hígado proporciona glucosa durante 12-14 horas. La única fuente de glucosa en el ayuno prolongado es la ruta gluconeogénica a partir de los compuestos derivados del catabolismo de lípidos (glicerol) o de aminoácidos (cetoacidosis).

La gluconeogénesis se realiza casi enteramente en el hígado, riñones y epitelio intestinal donde se encuentran las enzimas necesarias. (Garrido, 2001) Aproximadamente la producción de glucosa basal hepática es derivada por la glucogenólisis y la gluconeogénesis. La glucosa-6-fosfatasa es una enzima que hidroliza a la glucosa-6-fosfato con el resultado de la creación de un grupo fosfato y glucosa libre. (Andrade, et al., 2010)

La regulación de la producción hepática de glucosa se logra mediante cambios fisiológicos durante los periodos de ayuno e ingesta de alimento, los cuales provocan señales tanto hormonales como nutricionales por parte del sistema nervioso central, el páncreas y el tejido adiposo. Estas señales actúan sobre el hígado y es este órgano por medio de algunas enzimas clave (fructos-1-6-bifosfatasa y la fosfoenolpiruvato carboxinasa que son específicas de la gluconeogénesis; la 6-fosfogructosa-1-cinasa y la piruvatocinasa que son enzimas glucolíticas; mientras que para la glucogenólisis está la glucógeno fosfohidrolasa) que actúan específicamente en las ruta metabólicas mencionadas anteriormente (Wu, et al., 2005).

En un organismo normal las reservas energéticas pueden ser de tres tipos: glucógeno almacenado en el hígado y músculo en cantidades pequeñas, unas cantidades mucho mayores de triacilglicerol almacenados en el tejido adiposo y proteínas tisulares, que pueden degradarse cuando sea necesario para proveer combustible (Lehninger, 1995).

Tras un ayuno de toda la noche, casi todo el glucógeno hepático y la mayor parte del glucógeno muscular se han gastado, a las 24 horas, la glucosa de la sangre empieza a disminuir, la secreción de insulina se frena y se estimula la secreción de glucagón. Estas señales hormonales provocan la movilización de triacilglicerolos, que se convierten en el principal combustible para el músculo y el hígado. Para proporcionar glucosa al cerebro, el hígado degrada ciertas proteínas, aquellas menos imprescindibles para un organismo que no ingiere alimento. (Lehninger, 1995)

El acetil-CoA, producido por la oxidación de ácidos grasos, se acumula, favoreciendo la formación de cuerpos cetónicos en el hígado. Tras pocos días de ayuno, los cuerpos cetónicos en la sangre aumentan puesto que el hígado exporta estos combustibles al corazón, al músculo esquelético y al cerebro para su utilización en lugar de glucosa. (Rang, et al., 2008).

Se ha visto que la actividad de la glucosa-6-fosfatasa hepática se incrementa en modelos animales con diabetes mellitus tipo II, ya sea inducidos a diabetes con alloxan o estreptozotocina. (Khan et al 1998). En particular para animales modelo inducidos con estreptozotocina, se ha visto una sobre expresión de la glucosa-6-fosfatasa, un incremento en el ciclo de la glucosa y una disminución en la utilización de la glucosa. (Khan, et al, 1998)

### **ALCALOIDES:**

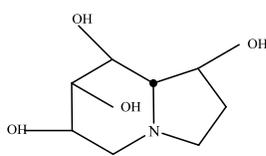
Las bases preliminares que han mostrado varios compuestos presentes en las plantas, es que poseen actividad antidiabética. Los alcaloides aislados de varias plantas han demostrado tener esta capacidad. (Kim et al., 2007). Existen compuestos como la metformina, el ácido-3-mercaptopicolínico y el ácido clorogénico que inhiben la gluconeogénesis hepática y este efecto ayuda al tratamiento en pacientes diabéticos tipo II. (Hemmerle, et al., 1997)

Si bien la noción de alcaloide es bastante reciente, el conocimiento de la toxicidad y de las propiedades de las plantas y de las drogas que poseen alcaloides es muy antiguo:

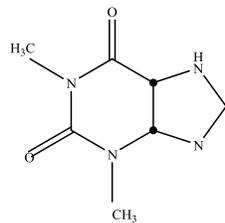
opio, coca, acónito, belladona, cólchico, quina, ipecacuana o curares se utilizan desde hace siglos, incluso según algunos desde hace milenios.

Los alcaloides son compuestos orgánicos de origen vegetal, nitrogenados, más o menos básico, de distribución restringida, de marcadas propiedades farmacológicas. El agrupamiento de tal conjunto, se confirma por otra parte mediante reacciones comunes de precipitación. (Sharma, et al., 2009)

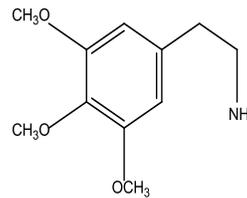
**Estructura de algunos alcaloides figura 10 castanospermina, 11 teofilina, 12 mescalina, 13 cafeína**



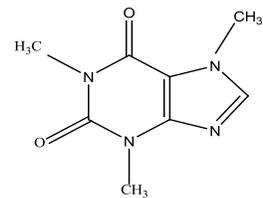
Castanospermina



Teofilina



Mescalina



Cafeína

El ácido clorogénico, (Figura 17) juega un papel importante en el metabolismo de las plantas, además de presentar un efecto antioxidante (Hemmerler et al. 1997). Se ha demostrado que este compuesto y algunos de sus derivados sintéticos inhiben el sistema enzimático Glucosa-6-fosfatasa, que como ya hemos visto, cataliza el paso final de la gluconeogénesis hepática (Arion, et al. 1997; Simón, et al., 2000).

#### **4.3.1. Estudios a diferentes plantas con actividad inhibitoria de la gluconeogénesis.**

##### **4.3.1.1. Inhibición de la gluconeogénesis de tres plantas hipoglucemiantes:**

Para confirmar el efecto hipoglucémico y posible mecanismo de acción, Mendiola en 2009 realizó pruebas a tres plantas: *Cecropia obtusifolia*, *Cecropia peltata* y *Tournefortia hirsutissima*, para determinar el efecto de inhibición de la gluconeogénesis

En este estudio se utilizaron dos formas de extracción para las tres especies de plantas en estudio, 1ª fue la infusión de la planta (extracto acuoso “a las tres diferentes especies de plantas”), para la infusión se utilizó agua como solvente y de 10 a 15 g de la planta seca y molida, Se dejó a ebullición por 5 minutos y se utilizó para la prueba *in-vitro*.

Para la 2ª extracción (extracto butanólico) a las tres diferentes especies de plantas”) se utilizó el método de soxhlet, se utilizó de 25 a 30 g de la planta y se extrajo por un periodo de dos días, transcurrido el tiempo se dejó secar y nuevamente se extrajo con MeOH para la prueba *in-vivo*.

Para esta prueba se utilizaron ratas inducidas a diabetes, las cuales se dejaron en ayuno durante 16 horas, este ayuno agotó la glucosa por la ingesta de alimento y la reserva de glucógeno, promoviendo así la gluconeogénesis como ruta metabólica para la obtención de energía. Se formaron 6 grupos de 11 ratas cada uno y se trataron de la siguiente manera para la prueba *in-vivo*:

Grupo 1 control no diabético solución salina

Grupo 2 control diabético solución salina

Grupo 3 ácido clorogénico (5 mg/Kg)

Grupo 4 extracto butanólico (80 mg/Kg) de *Tournefortia hirsutissima*

Grupo 5 extracto butanólico (150 mg/Kg) de *Cecropia obtusifolia*

Grupo 6 extracto butanólico (150 mg/Kg) de *Cecropia peltata*

A todos los grupos se les inyectó de forma intraperitoneal una dosis de piruvato de 2 g/Kg para promover la gluconeogénesis hepática tras un ayuno prolongado de 16 hrs. La administración de piruvato provoca un incremento exagerado (1.5 veces) la concentración de glucosa en sangre. (Miyake et al. 2002). Se midieron los niveles de glucosa a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos. (Mendiola, 2009)

Como se esperaba en la prueba *in-vivo*, los niveles de glucosa aumentaron en todos los grupos a los 30 minutos y a los 90 min comenzaron a disminuir, excepto en el grupo control diabético no tratado. El grupo control 1 no diabético la concentración de glucosa incremento a los 30 min fue disminuyendo en los siguientes tiempos hasta llegar niveles basales, el grupo 2 diabético sin tratamiento se observó un aumento drásticamente desde los 30 min y se mantuvo a lo largo del experimento, de manera que a los 120 min se observan valores de casi el doble de los basales.

El grupo 3 tratado con el ácido clorogénico muestra valores similares a los 30 min a los grupos 1 y 2, pero comienzan a disminuir a los 60 min de manera que, al término del experimento, los valores bajaron significativamente pero no alcanzaron los niveles basales.

El grupo 4 tratado con el extracto de *Tournefortia hirsutissima* también aumenta la glucosa a los 30 min, pero comparada con el grupo control 2 diabético es significativamente menor y comienzan a disminuir hasta los 90 min, llegando a los 120 min con niveles ligeramente elevados a los basales.

El grupo 5 tratado con el extracto de *Cecropia obtusifolia* se ve un aumento moderado de los niveles de glucosa con respecto a los basales a partir de los 30 min, es hasta los 90 min que se observa una disminución del valor de la glucosa plasmática llegando al final con niveles basales.

Para el grupo 6 tratado con el extracto de *Cecropia peltata* se ve un aumento a los 30 min con respecto a los basales, pero estos niveles disminuyen a partir de los 60 min alcanzando los basales, pero estos continúan disminuyendo de manera que a los 90 min ya están significativamente debajo de los iniciales, manteniéndose así hasta los 120 min.

Se observa que el ácido clorogénico no posee una actividad hipoglucémica significativa en comparación con cualquiera de los tres extractos de las plantas, que llegaron a

disminuir los niveles de glucosa similares a los basales, esto puede deberse a que hay otros compuestos presentes en las plantas que también actúan inhibiendo la gluconeogénesis.

**4.3.1.1.1. Prueba de la inhibición de la glucosa-6-fosfatasa *In vitro*:** Para la obtención de microsomas se utilizaron ratas de 3 meses de edad, se dejaron en ayuno por 8 horas, posteriormente se anestesiaron. Se les abrió el abdomen y se inyectó 0.1 mL de heparina. Se les extrajo el hígado, se tomaron 3 g de tejido se diluyó con 5 mL de solución buffer, se homogeneizó y se centrifugo. En el sobrenadante se encontraron los microsomas intactos, de manera que estos microsomas mantienen la actividad de los tres componentes del sistema G-6-Pasa (Pullman, et al., 1967; Arion, et al., 1997).

Se calculó la actividad enzimática de forma indirecta en estos microsomas midiendo la formación de fósforo inorgánico desde glucosa-6-fosfato (Arion, 1989). Los extractos BuOH y acuoso de las tres plantas se agregaron al medio a concentraciones de 2, 5, 20, 50, 200, 500, 1000 y 2000 µg/mL. Los resultados mostraron capacidad inhibitoria de la G-6-Pasa de los extractos acuosos y butanólicos de las 3 plantas, así como del ácido clorogénico.

Los resultados obtenidos de los extractos de *Tournefortia hirsutissima* en la prueba de inhibición de la Glucosa-6-fosfatasa, muestran un mayor efecto inhibitorio en el extracto BuOH, que en el extracto acuoso, además de que su actividad inhibitoria se incrementa lentamente mientras mayor es la concentración. Los resultados de *Cecropia obtusifolia* sobre la actividad de la glucosa-6-fosfatasa muestran tener una mejor inhibición que el extracto acuoso, esto puede deberse a que los compuestos activos están más concentrados en el extracto BuOH que en el extracto acuoso. Los resultados obtenidos para los extractos de *Cecropia peltata* muestran una actividad inhibitoria de la G-6-Pasa menor en el extracto BuOH que en el extracto acuoso, esto puede deberse a la alta concentración de los principios activos en el extracto BuOH que saturan el sistema enzimático, evitando su acción.

Las tres especies de las plantas tienen efecto inhibitorio sobre la gluconeogénesis hepática. Aunque otros mecanismos de acción, como la estimulación de liberación de insulina o el aumento en la ruta metabólica de glucogénesis, no son descartados. (Mendiola, 2009)

Los extractos de las tres especies fueron analizados por HPLC: Los cromatogramas mostraron en el caso del extracto BuOH de *C. obtusifolia* la presencia del ácido clorogénico como la iso-orientina, el extracto BuOH de *C. peltata* mostró la presencia de iso-orientina pero no se aprecia el ácido clorogénico y el extracto BuOH de *T. hirsutissima* no se aprecia la presencia del ácido clorogénico ni de iso-orientina, y sus principales compuestos aun no han sido caracterizados (Mendiola, 2009)

#### **4.3.1.2. Actividad antidiabética de *Vatairea macrocarpa*:**

*Vatairea macrocarpa*, es otra planta que basa su efecto hipoglucemiante por inhibición de la ruta gluconeogénica, Domingues y colaboradores en 2010 centraron su investigación en la resistencia periférica de la insulina, y desarrollaron el siguiente procedimiento. Para este bioensayo se utilizó la corteza del tronco pulverizado y se dejó en etanol por siete días a temperatura ambiente. Después de este tiempo el extracto se filtro y el etanol se evaporo. Se requirió de 5.5 g de la corteza seca para obtener 1 g del extracto.

Se utilizaron ratas de 180 a 210 g de peso, las cuales fueron inducidas a diabetes al administrarles por vía intravenosa estreptozotocina. Después de 5 días de la administración se utilizaron para el experimento. Las ratas se dividieron en dos grupos:

Grupo A) diabético control se le administro solo agua como vehículo

Grupo B) diabético tratado con 500 mg/Kg del extracto, que en estudios previos mostro tener mayor efecto hipoglucémico.

El extracto se administro una vez al día durante 21 días que duro el experimento. A ambos grupos se les investigó intracelularmente la alteración de la insulina señal, tanto

en hígado, músculo, tejido adiposo, así como la gluconeogénesis hepática. Posteriormente las ratas fueron anestesiadas y divididas en subgrupos para recibir los siguientes tratamientos por vía intravenosa.

### **Grupo A diabético control sin tratamiento**

Grupo A1 más solución isotónica de sodio

Grupo A2 más insulina 4 u/mL

### **Grupo B diabético tratado con 500 mg/Kg del extracto**

Grupo B1 más solución isotónica de sodio

Grupo B2 más insulina 4 U/mL

Antes y después de la administración del vehículo y de insulina se colectaron fragmentos de diferentes tejidos: músculo y tejido adiposo de todos los grupos. A las muestras se les determinó: niveles de proteína de insulina señal, insulina receptor, proteína quinasa y los niveles de fosforilación de la proteína quinasa; al tejido hepático se le determinaron todas las pruebas anteriores más el nivel de la fosfoenol piruvato carboxinasa.

Los análisis realizados arrojaron los siguientes resultados: las pruebas realizadas al tejido hepático mostró que el grupo diabético control (A2) que se le administró insulina 4 U/mL respecto al grupo tratado con el extracto más insulina (B2), este último mostró un aumento en los niveles de **proteína señal** (34 %) respecto a los grupos que solo recibieron una solución vehículo (A1, B1), la fosforilación de la proteína quinasa se incrementó 82 %, además la estimulación de insulina por los niveles de fosforilación de la proteína quinasa fue significativamente más alta, aproximadamente 54 % en los grupos tratados con insulina A2 y B2 con respecto a los que solo recibieron el vehículo A1 y B1. La insulina señal en el tejido adiposo se incrementó un 117 % en las ratas tratadas con el extracto de la planta B1 y B2, con respecto a los grupos A control. Los niveles de fosforilación basal de la proteína quinasa en el tejido adiposo fue 84% más alto el grupo tratado con el extracto, comparado con el grupo control. La fosfoenol

piruvato carboxinasa hepática, en el grupo tratado con el extracto de *Vatairea macrocarpa* (grupo B) mostro una reducción de 21 %.

Es bien conocido que la gluconeogénesis es un proceso que se incrementa en la diabetes, contribuyendo al desarrollo de hiperglucemia; así inhibiendo la insulina. De esta manera la inhibición de la producción de glucosa endógena puede ser un mecanismo de acción de la planta a promover la respuesta anti-hiperglucémica. En el ensayo que se realizó con el extracto de *Vatairea macrocarpa* administrado a ratas inducidas a diabetes, quedó demostrado que los niveles de la fosfoenol piruvato carboxinasa (enzima clave en la gluconeogénesis) se redujo en el hígado de las ratas tratadas con el extracto de la planta. Estos resultados parecen demostrar que el efecto antihiperglucémico del tratamiento con el extracto es consecuencia en parte de la inhibición de la producción de glucosa hepática. (Domingues, et al., 2010)

Basados en los resultados, se sugiere que la síntesis de glucógeno hepático puede incrementarse después del tratamiento con el extracto de la planta. La fosforilación de la glucógeno sintetasa por la proteína quinasa es el mecanismo por el cual su actividad es inhibida en respuesta a la insulina, y su sustrato glucógeno sintetasa, es entonces desfosforilado y activado. En resumen los datos presentan actividad hipoglicémica del extracto de la corteza de la planta puede ocurrir a través de la estimulación del canal de la insulina señal en los tejidos periféricos en ratas diabéticas, principalmente en el músculo esquelético y el tejido adiposo (probablemente promoviendo el incremento en el canal de salida de la glucosa) y en el hígado (incrementando la síntesis de glucógeno). La disminución de los niveles de la proteína fosfoenol piruvato carboxinasa, pueden ser asociados con la inhibición de la gluconeogénesis, también contribuyen a la reducción de la glicemia después del tratamiento con el extracto de la corteza de la planta. (Domingues, et al., 2010)

#### **4.3.1.3. Potencial antidiabético de *Capparis decidua*:**

Por otro lado se investigó la actividad antidiabética del fruto de la planta de *Capparis decidua* (fracción aislada rica en alcaloides). Bhavna en 2009 propuso la siguiente investigación: (Figura 4)

Para este estudio se utilizaron ratones de 5 a 6 semanas de edad aproximadamente, con un peso aproximado de 35 gramos. Se utilizaron 15 ratones y se dividieron en tres grupos:

Grupo 1 control no diabético

Grupo 2 control diabético

Grupo 3 diabético tratados con la fracción rica de alcaloides.

La prueba de tolerancia a la glucosa y la glucosa en sangre en ayuno fue determinada al final del experimento que duro 28 días. Los ratones se dejaron en ayuno durante toda la noche para determinar los niveles de glucosa en sangre, la prueba de tolerancia a la glucosa fue determinada por la administración oral de glucosa de 1 g/Kg de peso corporal en 0.1 mL de agua. Las muestras de sangre se colectaron a los 30, 60, 90 y 120 min después de la administración oral de glucosa.

Los análisis realizados arrojaron los siguientes resultados: Los niveles de glucosa en sangre en ayuno fueron significativamente altos en el grupo diabético, mostrando un significativo descenso después del tratamiento con la fracción rica de alcaloides como se muestra en la tabla 14. La prueba de tolerancia a la glucosa oral comparada con la elevación aguda en los niveles de glucosa después de 30 min el nivel de la glucosa fue más pequeño en los ratones tratados con la fracción rica de alcaloides, comparado con el grupo control y el grupo diabético.

**Tabla 14 Niveles de glucosa en plasma (mg/dL) en los ratones**

Grupo tratamiento	Glucosa en ayuno	30 min	60 min	90 min	120 min
1	93	157	142	123	102
2	162	274	258	248	232
3	147	210	175	144	125

(Bhavna, et al., 2009)

Aproximadamente después de 24 horas de realizar las pruebas de glucosa en sangre y tolerancia a la glucosa los animales se sacrificaron y la sangre fue colectada, así como: tejidos de corazón, hígado, riñones, músculo y tejido adiposo para medir niveles de glucógeno, actividad de la glucosa-6-fosfatasa, actividad de la enzima hexoquinasa en hígado, así como la estimación del canal de salida de glucosa.

El glucógeno contenido en tejido muscular y hepático aumento de un 33 y 28 %, respectivamente en comparación con el grupo diabético. La actividad enzimática en hígado después de 28 días de tratamiento con la fracción rica de alcaloides, la actividad de glucosa-6-fosfatasa se redujo significativamente (44 %) comparada con el grupo diabético que no recibió el tratamiento. El tejido muscular (fracción rica de alcaloides) que se incubó en una solución buffer que contenía glucosa 11.1 mM e insulina 25 µg, el nivel de glucosa gradualmente disminuyó de los 30 a los 120 min.

Los datos presentados demostraron que los niveles de glucosa bajaron después del tratamiento en los ratones en la prueba de tolerancia a la glucosa. El incremento del canal de salida de la glucosa por el tejido muscular en presencia de la fracción de alcaloides solo indica el potencial hipoglucémico del extracto. De cualquier modo en las células incubadas con insulina y la fracción de alcaloides, no se observó un efecto sinérgico en términos de la salida de glucosa. Estos resultados reflejan dos posibilidades: los alcaloides tienen un efecto como el de la insulina o ellos estimulan directamente las enzimas en el metabolismo de la glucosa.

El potencial antidiabético de la fracción de alcaloides fue analizado por la observación en los cambios de los niveles de varias enzimas responsables de mantener la homeostasis de la glucosa. Varias enzimas, la hexoquinasa tipo IV hepática, la glucosa-6-fosfatasa y la fosfoenol piruvato carboxinasa son conocidas en su mayor parte por que son cruciales en este proceso. Mientras que la glucosa-6-fosfatasa en condiciones de diabetes los niveles de estas enzimas son alterados, resultando en la producción de glucosa. En el presente estudio la fracción de alcaloides resulto con una significativa alteración en la actividad de la hexoquinasa hepática y glucosa-6-fosfatasa en el grupo de los animales tratados con la fracción de alcaloides y casi es similar al grupo control. De esta manera el aumento de la actividad enzimática y la expresión de las muestras pueden ser atribuidas a la fracción de alcaloides por lo que juega un rol efectivo en el mejoramiento del metabolismo de los hidratos de carbono. (Bhavna, et al., 2009)

#### **4.4. Inhibidores de alfa-glucosidasas (polifenoles y flavonoides)**

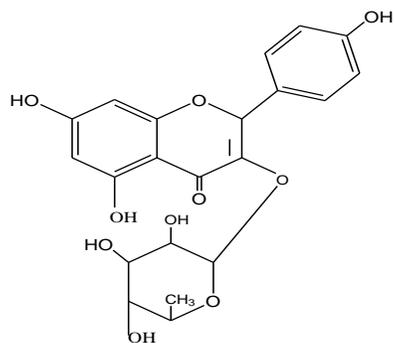
En años recientes se han hecho varias investigaciones a las plantas medicinales enfocadas a la actividad de la inhibición de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa (Abesundara et al., 2004; Onal et al., 2005, entre otros). Varios autores mencionan que los flavonoides y polifenoles son buenos derivados de azúcar y fundamentan la efectividad en la inhibición de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa. La  $\alpha$ -glucosidasa es una enzima que se localiza en el cepillo del borde intestinal y es requerida en la interrupción de la absorción de los hidratos de carbono y monosacáridos, reduciendo la glucosa post-prandial y la insulina (Mei, et al., 2010). (Montgomery, 1993)

Solo los monosacáridos pueden ser absorbidos desde el lumen intestinal y transportados al torrente sanguíneo, la  $\alpha$ -glucosidasa, es una enzima digestiva entérica que degrada los hidratos de carbono complejos y disacáridos en monosacáridos, pueden ser considerados un factor importante para la homeostasis de glucosa en sujetos diabéticos. (Balfour, et al., 1993)

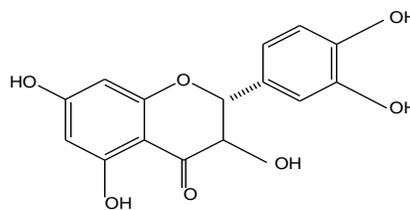
#### **4.4.1. Compuestos fenólicos y flavonoides**

Los flavonoides son pigmentos casi universales en los vegetales. Casi siempre hidrosolubles, son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas. Así ocurre con los flavonoides amarillos (chalconas, auronas, flavonoles amarillos), con los antocianósidos rojos, azules o violetas. Los flavonoides se encuentran también en la cutícula foliar y en las células epidérmicas de las hojas, asegurando así la protección de los tejidos contra efectos nocivos de las radiaciones ultravioletas. (Bruneton, 2001)

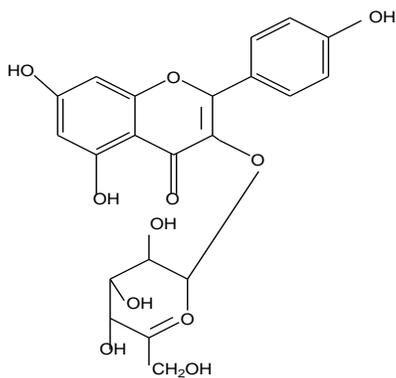
Figura 14 3-ranoglucósido, 15 quercetina, 16 caempferol 3-galactósido, 17 ácido clorogénico, 18 cumarina, 19 epicatequina



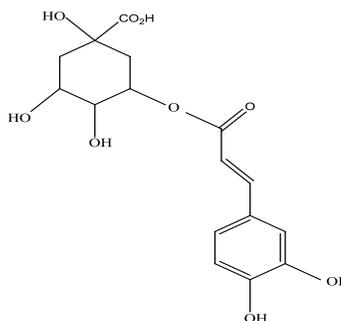
3-ranoglucosido (2)



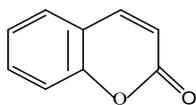
QUERCETINA



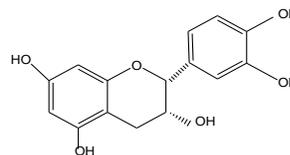
Caempferol 3-galactosido (1)



Acido clorogénico



Cumarina



EPICATEQUINA

#### **4.4.2. Plantas que sugieren efecto hipoglucémico por la inhibición de la enzima $\alpha$ -glucosidasa**

##### **4.4.2.1 *Cecropia obtusifolia*, *Equisetum myriochaetum*, *Acosmium panamense* y *Malmea depressa*:**

Andrade y colaboradores en 2007 realizaron estudios experimentales en los que se compararon los fármacos comerciales (acarbose inhibidor de  $\alpha$ -glucosidasa, Repaglinine y Glibenclamida) con el extracto de las hojas de *Cecropia obtusifolia*, *Malmea depressa*, *Acosmium Panamense* en ratas inducidas a diabetes, resultaron tener efectos similares; solo la acarbose es capaz de reducir la glucosa en sangre después de 30 minutos al igual que lo hicieron los extractos de las plantas mencionadas. (Andrade, et al., 2007)

Estas plantas han sido estudiadas previamente en sus aspectos: etnofarmacológico, hipoglucémico y fitoquímico que se han establecido para cada planta. Estas plantas son usadas por la población mexicana para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II. Preparan una infusión oral y la toman durante el día. Aquí un pequeño sumario de estas plantas y las pruebas que se realizaron.

##### **4.4.2.1.1. *Cecropia obtusifolia*:**

Tradicionalmente se usan las hojas de esta planta. El efecto hipoglucémico del extracto acuoso y butanólico se preparo de las hojas y se probó en ratas inducidas a diabetes. De estos extractos el ácido clorogénico e isoorientin fueron aislados como principales compuestos.

##### **4.4.2.1.2. *Equisetum myriochaetum*:**

Tradicionalmente se usa la parte aérea de la planta (hojas y tallos). Los constituyentes que se aislaron de la parte aérea de la planta son: kaempferon-3-O-sophoroside, caemferol-3,7-di-O- $\beta$ -glucosido, caffeoyl-metilato-4'-O- $\beta$ -glucosido (Andrade, et al.,

2000). En estas plantas se ha demostrado que el extracto acuoso tienen la misma composición fitoquímica que el extracto butanólico. El efecto hipoglucémico también se ha probado en pacientes con diabetes tipo II.

#### **4.4.2.1.3. *Acosmium panamense*:**

La corteza de la planta es la que se usa tradicionalmente. Uno de los principales compuestos es el ácido cafeico. El efecto hipoglucémico de esta planta ha sido demostrado en ratas inducidas a diabetes.

#### **4.4.2.1.4. *Malmea depressa*:**

Tradicionalmente se usa la raíz del árbol. El extracto butanólico produce dos derivados de fenil-butano. El efecto hipoglucémico se ha demostrado en ratas inducidas a diabetes.

Se utilizaron ratas de cinco días de nacidas con un peso de entre 10 y 12 g, las cuales fueron inducidas a diabetes con estreptozotocina. El grupo control solo recibió agua. A las 4 semanas de edad las ratas se separaron de sus madres y tienen libre acceso al alimento y al agua. Después de 12 semanas de la inyección del estreptozotocina, la diabetes se identificó por polidipsia (aumento de la sed), poliuria (aumento de la cantidad de orina) y por los niveles de glucosa en ayuno.

En este experimento se midió la actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa *in vitro*: El ensayo contenía 0.1 M de un buffer de fosfatos, 2 mM de 4-nitrofenol glucopiranosido (4-nitrofenol glucopiranosido), 0.1U de  $\alpha$ -glucosidasa y el extracto de la planta con el fármaco estándar con un rango de 0.2- 2000  $\mu$ g/mL. Prueba de la administración del extracto contra una carga de maltosa. Los animales diabéticos se dividieron en 9 grupos de 11 ratas cada uno:

Grupo I control no diabético recibió solución fisiológica de NaCl

Grupo 2 control diabético recibió solución fisiológica de NaCl.

Grupo 3 diabético tratado con acarbose 3 mg/Kg

Grupo 4 diabético tratado con repaglinide 4 mg/Kg  
Grup0 5 diabético tratado con glibenclamida 3 mg/Kg  
Grupo 6 diabético tratado con extracto de *Equisetum myriochaetum* 96 mg/kg  
Grupo 7 diabético tratado con *Cecropia obtusifolia* 96 mg/Kg  
Grupo 8 diabético tratado con *Malmea depressa* 96 mg/Kg  
Grupo 9 diabético tratado con 100 mg/kg de *Acosmium panamense*.

Recolección y determinación de los niveles de glucosa en sangre: Las muestras de sangre se obtuvieron 5 minutos antes de la administración de los extractos y a los tiempos 30, 60 y 90 minutos después de la administración del vehículo y de extractos.

Efectos de los fármacos control en las ratas después de la administración de maltosa  
Tabla 15: Los niveles de glucosa en el grupo control diabético se incremento considerablemente comparado con el grupo control no diabético. Después de 30 minutos de la administración de maltosa de las drogas ensayadas solo la acarbosa redujo significativamente los niveles de glucosa comparada con el grupo diabético control. Esta reducción se observó hasta los 90 minutos mientras que la glibenclamida y repaglinide no mostraron efectos significativos en los 90 minutos comparados con el grupo control diabético. Efecto de los extractos en las ratas después de la administración de maltosa  
Tabla 15: Los grupos que recibieron el extracto de *Equisetum myriochaetum* exhibieron tolerancia y fueron muy similares al grupo diabético control (no se mostraron efectos significativos), indicando que ese extracto no cumplió con la hidrólisis de la maltosa y/o la absorción de la glucosa. En contraste los extractos de *Malmea* y *Acosmium* disminuyeron significativamente la glucosa en sangre a partir de los 30 minutos es similar al efecto del fármaco acarbosa (inhibidor de  $\alpha$ -glucosidasas). El extracto de *Cecropia* ejerció una reducción de glucosa en plasma semejante hasta los 90 minutos.

**Tabla 15 Efecto de los diferentes tratamientos en la concentración de glucosa en sangre (mg/dL)**

Tratamientos	T = 0	30 min	60 min	90 min
Gpo 1 control ND	71	101	100	101
Gpo 2 control D	154	241	212	193
Gpo 3 + acarbosa	150	179	169	158
Gpo 4 + repaglinede	146	250	243	226
Gpo 5 + glibenclamida	158	207	188	161
Gpo 6 + <i>Equisetum m</i>	142	238	208	184
Gpo 7 + <i>Cecropia o</i>	144	151	141	129
Gpo 8 + <i>Malmea d</i>	153	174	172	164
Gpo 9 + <i>Acosmium p</i>	144	177	175	169

ND = no diabético, D = Diabético. (Andrade, et al., 2007)

Efecto de los extractos en la actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa *in vitro*: El ensayo in vitro de la  $\alpha$ -glucosidasa confirma los resultados observados en los animales modelo. *Cecropia* demostró ejercer una poderosa actividad inhibitoria, seguido de cerca por *Malmea depressa*, *Acosmium panamense* con una menor efectividad. Los extractos de *Cecropia* y *Malmea* exhiben una alta actividad inhibitoria similar a la acarbosa, *Equisetum* no mostró efectos significativos a esa concentración del extracto en el ensayo.

Los resultados mostrados en los animales modelo con la carga de maltosa, la reducción de glucosa se debe principalmente a la inhibición intestinal de la  $\alpha$ -glucosidasa, y se asume que la absorción de glucosa intestinal es inhibida. Además algunos de los compuestos naturales en estos extractos (fenoles, flavonoides y glicosidos) de acuerdo con los mencionados son efectivos inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa.

Basados en los resultados presentados, se puede decir que *Cecropia obtusifolia*, *Acosmium panamense* y *Malmea depressa* emplean un efectivo mecanismo inhibidor de  $\alpha$ -glucosidasas. Con estos resultados el futuro de la medicina tradicional soporta el

uso de plantas basando su actividad inhibitoria de la absorción de glucosa en el intestino. (Andrade et al., 2007)

#### **4.4.2.2. *Tecoma stans*:**

Se ha reportado que el ácido clorogénico y fenilpropanoides presentes en las hojas de la planta *Tecoma stans*, poseen propiedades terapéuticas, por el efecto hipoglicémico que ejerce; Aguilar y colaboradores investigaron la actividad antidabética que ejerce el extracto de las hojas de esta planta y el mecanismo por el cual ejerce este efecto. La infusión tradicional utiliza 1.15 g de hojas frescas en 250 mL de agua). Para este experimento se utilizaron 220g de las hojas de la planta y se extrajeron con agua a ebullición durante 30 minutos. La infusión se filtró y centrifugó. El extracto se concentro a presión reducida, y se utilizó en el bioensayo.

Se utilizaron ratas sanas y diabéticas de 250 a 300 g. Se formaron 6 grupos de 8 ratas cada uno, los cuales recibieron los siguientes tratamientos. Las ratas sanas y las ratas inducidas a diabetes se les administro una carga de glucosa (almidón) 2 g/Kg.

Grupo 1 control no diabético solo recibió agua

Grupo 2 diabético tratado con acarbosa 50 mg/Kg

Grupo 3 diabético tratado con tolbutamida 60mg/Kg

Grupo 4 diabético tratado con el extracto 125 mg/Kg

Grupo 5 diabéticotratado con el extracto 250 mg/Kg

Grupo 6 diabético tratado con 500 mg/kg de extracto

**Prueba aguda:** Las muestras de sangre se tomaron a la primera hora a los grupos 2, 4, 5 y 6 para medir los niveles de glucosa. Los resultados fueron los siguientes: Grupo 2 disminuyó 18%, Grupo 4: 14 %, Grupo 5: 20 % y Grupo 6:17 %.

Al grupo 2 que se le administro la acarbosa se le midió la glucosa en sangre a los 30 y 60 minutos, mostrando una disminución en los niveles de glucemia después de 30 min. 21 % y a los 60 min 31 %, comparado con el grupo control que no recibió tratamiento.

Se observa en los resultados de la prueba aguda que la concentración del extracto que más se acerca al efecto hipoglucémico del fármaco es la concentración de 250 mg/Kg.

**Prueba subcrónica:** Para esta prueba se utilizaron los grupos: 1 control, 3 (tratado con tolbutamida 60 mg/ Kg), y 6 (tratado con extracto a 500 mg/Kg). El fármaco y el extracto se administro a los animales diariamente durante 21 días. La glucosa se midió al tiempo cero, y cada semana. Los resultados se muestran en la siguiente tabla (16)

Tabla 16 Efecto de la administración diaria del fármaco y del extracto en los niveles de glucosa en sangre

Día	Control (agua)	Tolbutamida (60 mg/Kg)	Extracto 500 (mg/Kg)
0	401	412	512
7	513	447	437
14	488	506	537
21	434	556	512

(Aguilar, et al., 2009)

**4.4.2.2.1. Cuantificación total de fenoles y ácido clorogénico:** La infusión tradicional da 1.7 mg/mL de sólidos, del cual 67.3 µg (3.9 %) corresponde a compuestos fenólicos y 2.7 % de ácido clorogénico.

Inhibición intestinal de la  $\alpha$ -glucosidasa *in vitro*: Se utilizó el extracto a concentraciones de 0.2 y 1 mg/mL con dextrinas como sustrato. El extracto de la planta de *Tecoma stans* inhibe la producción de glucosa entre un 20 y 55 % a las concentraciones de 0.2 y 1 mg/mL respectivamente. En paralelo los ensayos con acarbosa (1 mg/mL) inhibió cerca del 95 % de la actividad de la enzima glucosidasa. Considerando la preparación de la medicina tradicional mexicana provee 1.7 mg/ml de sólidos, que inhiben el 58 % de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa.

La presencia del efecto anti hiperglicémico del extracto de *Tecoma stans* revelado por la tolerancia al almidón en las ratas tratadas con una dosis de 250 mg/Kg, y la inhibición *in vitro* de la  $\alpha$ -glucosidasa en el cepillo intestinal, postula que la principal actividad

antidiabética de *Tecoma stans* es la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa. En suma, debido al efecto del extracto a la dosis de 250 mg/Kg y la acarbose en la tolerancia al almidón fue de igual magnitud, se puede inferir que la capacidad inhibitoria en ambos tratamientos es similar en la  $\alpha$ -glucosidasa. (Aguilar, et al., 2009).

#### **4.4.2.3. *Acorus calamus*:**

*Acorus calamus* es otra de las plantas que es muy usada en la terapia de la diabetes mellitus tipo II en la medicina tradicional de América e Indonesia. Para este estudio Mei-mei y colaboradores realizaron pruebas *in vitro* y probaron varias fracciones del extracto en una línea celular de tejido adiposo para explorar la actividad inhibitoria de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa de la planta. La liberación de insulina y el efecto de la actividad inhibitoria de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa de diferentes fracciones del extracto de la planta, pueden ser detectadas en pruebas *in-vitro* usando una línea celular (HIT-T15) y la enzima  $\alpha$ -glucosidasa. La línea de células (HIT-T15) se obtuvo a partir de un cultivo primario de islotes celulares de hámster.

El extracto de la planta seca de *Acorus calamus* se preparó de la siguiente manera: se macero y se pulverizo, se dejó con etanol durante 3 días, después el extracto se filtró y evaporó a presión reducida a 50°C. Este extracto se pesó y dividió en 3 partes, posteriormente se agregaron a cada parte 3 diferentes soluciones: 1) éter de petróleo/agua, etil acetato/agua, 2) n-butanol/agua y 3) el extracto acuoso. Posteriormente cada parte se secó y concentró, obteniendo los siguientes rendimientos: Extracto 1 éter de petróleo/agua, 5.0 % rendimiento; Extracto 2 etil acetato/agua, 1.0% rendimiento; Extracto 3 n-butano/agua, 1.6 % rendimiento.

Ensayo de la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa *in-vitro*: La reacción de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa se realizó usando p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido como sustrato. 0.2 U/mL de  $\alpha$ -glucosidasa se trató con 1 mg/mL del extracto de *Acorus calamus* por 10 min a 37° C para cada uno de los extractos; para el control negativo se tomó el mismo volumen de enzima con dimetil sulfoxido; para el control positivo a la misma cantidad de enzima se le agregó 4 mg/mL de acarbose. Todas las pruebas se llevaron a 0.2 mL.

Después se tomaron 5  $\mu$ L de p-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopyranosido 0.116 M que se le agrego la reacción de la enzima de cada uno de los sustratos, se incubaron por 10 min a 37°C, los valores de p-nitrofenol liberados por el p-nitrofenil- $\beta$ -D-galacopyranosido fueron detectados 400 nm. La actividad de la enzima se comparo con el control en dimetil sulfoxido.

La actividad inhibitoria de la enzima  $\alpha$ -glucosida por el extracto de *Acorus calamus* en las diferentes fracciones fueron las siguientes: La fracción que mostró un porcentaje de inhibición significativo fue el extracto 2: etil acetato (1 mg/mL), con un porcentaje del 63.6%, muy parecido al resultado que tiene el fármaco acarbosa (4 mg/mL), el cual mostró un porcentaje de actividad inhibitoria de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa del 63.8 %, mientras que en las otras muestras revelaron una baja actividad inhibitoria ( $\leq$  26.0 %). Se sugiere que la actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa por el extracto ejerce un potencial antidiabético disminuyendo la absorción de los azucares en el lumen intestinal. (Mei, et al., 2010)

#### **4.5. EFECTO EN LA LIBERACIÓN DE INSULINA**

La insulina es una hormona polipeptídica de cuya síntesis, almacenamiento y secreción son responsables las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas. Las células  $\beta$  no sintetizan la insulina como tal, sino que lo hacen mediante un precursor constituido por una cadena única con mayor número de aminoácidos. Ese precursor, recibe el nombre de proinsulina. Posteriormente, y usando sistemas en los cuales no intervienen células enteras se comprobó que existe también un precursor anterior, al que se ha denominado por esa causa pre-proinsulina. La proinsulina se transforma en insulina por acción de un sistema enzimático, cuyo efecto puede reproducirse mediante una digestión controlada de tripsina, la cual ataca las uniones de los aminoácidos Arginina. Como resultado de esa digestión enzimática, la molécula inicial da lugar a la formación de dos nuevos péptidos: Ambos son luego acumulados en el interior de los gránulos secretorios del citoplasma de las células  $\beta$ . En consecuencia, la insulina y el péptido C

son secretados en forma equimolar al producirse la eliminación del gránulo por estímulo de las células  $\beta$ .

La molécula de insulina tiene un peso molecular de 5808 KDa y está constituida por dos cadenas: la A, de 21 aminoácidos y un puente disulfuro que une sus aminoácidos 6 y 11, y la B, de 30 aminoácidos. Ambas cadenas están unidas por dos puentes disulfuro ubicados entre los aminoácidos  $A_7$  y  $B_7$  y  $A_{20}$  y  $B_{19}$ , respectivamente. (Calandra, 1985)

La estimulación de la secreción de insulina es semejante en la glucosa y en las sulfonilureas. Estas sustancias actúan por la inhibición de la actividad del ATP-sensitivo del canal  $K^+$ , pero mientras que los nutrientes son metabolizados el efecto del canal se cierra. Los fármacos van directamente al canal y bloquean esta actividad. Los potenciadores de la secreción de insulina incluyen a numerosas hormonas, transmisores (semejantes a acetilcolina) y el aminoácido Arginina. Estos agentes amplifican la secreción de insulina inducido por un iniciador, pero ellos pueden provocar la secreción de insulina por que cierran los canales  $K_{ATP}$ , y pueden ser capaces de ejercer estos efectos después de tener inhibida la iniciación secretora. La inhibición de la liberación de insulina es producida por agentes que abren el canal  $K_{ATP}$  que es semejante al fármaco diazoxide. (Kyong, et al., 2008)

El páncreas humano secreta alrededor de 40 a 50 unidades de insulina por día en adultos normales. La concentración basal de insulina en sangre de humanos en ayuno tiene como promedio 10  $\mu$ U/mL. En controles normales, la insulina rara vez, se eleva más de 100  $\mu$ U/mL después de una comida normal. Hay un aumento en la concentración en la concentración de insulina periférica que se inicia de 8 a 10 minutos después de la alimentación y llega a un máximo en sangre periférica a los 30 a 45 minutos. Esto seguido de una declinación rápida en glucosa plasmática postprandial, que regresa a valores basales en 90 a 120 minutos. (Baxter, 1995)

#### 4.5.1. Plantas que estimulan la liberación de insulina.

##### 4.5.1.1. *Acorus calamus*:

*Acorus calamus* que además de mostrarnos un efecto en la inhibición de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, al parecer tiene más de un mecanismo para ejercer efecto hipoglucémico, Mei-mei en 2010 también, realizó pruebas experimentales para confirmar o desechar el efecto de liberación de insulina que podría presentar el extracto de esta planta.

De esta manera se determinó el efecto (*in vitro*) de la liberación de insulina de diferentes fracciones de *Acorus calamus*, en una línea celular.

Para esta prueba el extracto de *Acorus calamus* se dividió en 4 fracciones de diferentes concentraciones (6.25, 12.5 y 25  $\mu\text{g/mL}$ ). Todas las fracciones se disolvieron con dimetil sulfoxido, la solución control con gliclazida (fármaco estándar) contenía el mismo volumen que las fracciones.

Para el ensayo *in vitro* se utilizó una línea celular que fue cultivada hasta alcanzar una producción del 50%. Se tomó una alícuota del medio de cultivo para medir la concentración de insulina. Los cambios en la secreción de insulina en la línea celular tratada con el extracto después de 24 h en las tres diferentes concentraciones en las diferentes fracciones, pudo ser estimulada por la supresión de sustancias químicas. La que mostró una mayor producción de insulina fue la fracción de etil-acetato más el extracto de la planta en cualquiera de las 3 concentraciones siendo la más efectiva la de 25  $\mu\text{g/mL}$ , seguida de la de 12.5  $\mu\text{g/mL}$ , siendo estas dos superiores a la gliclazida, que se utilizó como control. La fracción que menos producción de insulina mostró fue el extracto en éter de petróleo. Se sugiere que el extracto de la planta de *Acorus calamus* tiene un efecto similar a la gliclazida. (Mei, et al., 2010).

#### 4.5.1.2. *Costus pictus*:

Estudios fitoquímicos preliminares revelan que el extracto acuoso de las hojas de esta planta muestran la presencia de proteínas, taninos, glucósidos y flavonoides. (Jothivel, et al., 2007)

Se realizaron pruebas *in vivo* e *in-vitro* al extracto de las hojas secas de la planta *Costus pictus*, para medir el efecto hipoglucémico y la actividad secretora de insulina en una línea celular. Para la preparación del extracto las hojas se secaron y pulverizaron, al polvo posteriormente se le agrego agua y se dejo por un espacio de 2 horas, después se refrigero a 4°C por toda la noche. El sobrenadante se separo y evaporo y liofilizó obteniéndose 69 g de polvo liofilizado que se utilizó para el estudio antihiperoglucémico en ratas inducidas a diabetes con estreptozotocina.

Se utilizaron 20 ratas macho adultas de 180 a 240 g de peso corporal divididas en 4 grupos y recibieron el siguiente tratamiento durante 14 días del experimento

Grupo 1 control no diabético recibió una solución buffer

Grupo 2 control diabético recibió una solución de dietil éter

Grupo 3 diabéticas tratadas con insulina cada 24 h

Grupo 4 diabético tratadas con extracto 250 mg/kg de forma oral cada 24 h

Las muestras de sangre fueron colectadas antes del tratamiento (T=0), así como a los días 3, 6, 10 y 14 para medir los niveles de glucosa en plasma, obteniendo los siguientes resultados: Tabla 17.

**Tabla 17 Niveles de glucosa en sangre (mg/dL)**

Grupos	Día 0	Día 3	Día 6	Día 10	Día 14
1 control (-)	87.1	92.5	88.4	103.2	99.3
2 control (+)	76.7	257.1	305.1	307.7	307.9
3 + insulina	86.2	258.8	301.4	192.8	140.0
4 + extracto	102.5	259.8	301.5	205.0	124.0

(Gireesh, et al., 2009)

Los niveles de glucosa en sangre en todas las ratas fue normal antes de la inducción a la diabetes. En el grupo diabético significó un incremento en los niveles de glucosa comparado con el grupo control. El tratamiento con insulina y el extracto acuoso de la planta redujeron significativamente los niveles de glucosa comparado con el grupo diabético, mostrando tener un mayor efecto hipoglucémico el extracto de la planta comparado con el grupo que recibió insulina.

Circulación de los niveles de insulina: Se observó una disminución de insulina en plasma en el grupo 2 diabético comparado con el grupo 1 control no diabético. El tratamiento con insulina y la suplementación del extracto de *Costus pictus* por 14 días aumento los niveles de insulina significativamente en el grupo 4 con valores muy cercanos al del grupo control no diabético, el grupo 3 tratado con insulina no mostro un aumento en la circulación de insulina tan significante como el grupo que recibió el extracto de la planta.

Al termino del estudio *in-vivo* los animales fueron sacrificados, la sangre se colecto y el plasma se separo por centrifugación, se midió el nivel de insulina circulante, y el hígado se separó y refrigeró para el estudio *in-vitro*.

Estudio *in-vitro* de la actividad secretora del extracto de las hojas de *Costus pictus*: Los islotes pancreáticos fueron aislados de ratas macho adultas con un procedimiento aséptico de digestión por colagenasa estándar. Los islotes fueron colocados en un buffer de sodio. Los niveles de secreción de insulina por estos islotes fue monitoreada a la 1ª h y las 24 h de haber agregado el extracto de la planta. El extracto se probó a 5 diferentes concentraciones, con 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 5.0 mg/kg, con dos diferentes concentraciones de glucosa 4 mM y 20 mM representando condiciones normales y condiciones diabéticas respectivamente, posteriormente se incubaron por 1 a 37°C. Para determinar la concentración de insulina se utilizó una curva estándar. La proteína se midió por el método de Lowry usando albumina sérica bovina estándar.

Los resultados obtenidos de esta prueba muestran claramente un efecto significativo en cuanto a la liberación de insulina por los islotes pancreáticos, a causa del extracto de las hojas de la planta, a las 24 h de la administración del extracto con las dos diferentes concentraciones de glucosa se mostró un mayor efecto de actividad secretora a la concentración de glucosa 4 mM más el extracto a la concentración de 0.5 mg/mL.

El incremento en los niveles de insulina en las ratas tratadas con el extracto de las hojas de *Costus pictus* se atribuye a la estimulación de las células  $\beta$  del páncreas, con lo cual ejerce acción antihiper glucémica. De esta manera se sugiere que el extracto de las hojas induce la liberación de insulina y por eso se potencializa su efecto. (Gireesh et al., 2009)

#### **4.5.1.3. *Caesalpinia bonducella*:**

Otra de las plantas estudiadas por su mecanismo de acción hipoglucemiante es *Caesalpinia bonducella*. Shrabana en 2004 realizó el estudio de esta planta *in-vivo* e *in-vitro* para conocer el mecanismo por el cual actúa mostrando efecto hipoglucémico.

El extracto de *Caesalpinia bonducella* se obtiene de las semillas a las cuales se les removió la cascarilla, se secaron y pulverizaron. El polvo de la semilla (100 g) se extrajo con 800 mL de etanol, después de 24 h se filtro y centrifugo, después el extracto se concentro a presión reducida y se liofilizo.

Para el tratamiento *in vivo* se indujeron a diabetes a las ratas y se dividieron en 5 grupos se trataron de la siguiente manera por 28 días:

- Grupo 1 tratado con metformina,
- Grupo 2 tratado con glibenclamida,
- Grupo 3 tratado con extracto acuoso (250 mg/Kg),
- Grupo 4 tratado con extracto etanólico (250 mg/Kg)
- Grupo 5 control no recibió tratamiento.

Al término de tratamiento el peso corporal de los animales se incremento significativamente en los grupos tratados con el extracto acuoso de las semillas, la glibenclamida y la metformina, comparados con el grupo control.

Los niveles de glucosa en suero disminuyeron significativamente desde el primer día hasta el día 28, con el extracto acuoso (grupo 3), mientras que el grupo 4 que recibió el extracto etanólico disminuyó la glucosa en sangre desde el primer día hasta el día 14 solamente (Tabla 18). El efecto es comparable con la metformina y la glibenclamida. El fenómeno indica claramente que los extractos de las semillas tienen un control potencial anti-hiperglucémico en el estado de diabetes mellitus tipo II.

**Tabla 18 Efecto del extracto de *Caesalpinia bonducella* en el peso corporal g, concentración de glucosa (mmol/mL) e insulina en suero ng/mL**

Grupos y Tratamiento	Peso corporal día 1	Peso corporal día 28	[ ] glucosa día 1	[ ] glucosa día 28	[ ] insulina	[ ] insulina
1 metformina	151.43	172.14	8.78	7.93	0.358	0.386
2 glibenclamida	152.20	167.22	8.27	6.02	0.383	0.706
3 extracto aq	158.75	156.87	9.25	5.72	0.278	0.385
4 extracto MoH	151.87	161.25	8.20	5.65	0.343	0.574
5 control	153.75	165.62	9.39	6.65	0.250	0.437

(Shrabana, et al., 2004)

Tratamiento *in-vitro*, Al termino del estudio *in-vivo* los animales tratados con el extracto acuoso y etanólico se sacrificaron y los islotes de las células de páncreas de las ratas fueron aislados, se sometieron a digestión por colagenasa y se dividieron en dos grupos, los cuales posteriormente fueron disueltos en una solución buffer, uno con una concentración de glucosa de 3 mM y el segundo con una concentración de glucosa 11 mM simulando el estado diabético y no diabético. La insulina aislada de los islotes fue estimada por la prueba de ELISA y fue expresada en términos de proteína en ng. La insulina sérica incremento significativamente en el grupo tratado con el extracto acuoso

y fue de 0.383 mg/mL en el primer día y al día 28 el incremento fue de 0.706 ng/mL, y el grupo tratado con el extracto etanólico el aumento de insulina sérica no fue muy significativo.

Estos resultados son semejantes a los fármacos estándares. Por lo tanto se presume que el efecto hipoglucémico del extracto influencia el mecanismo central de acción en el cuál se estimula la insulina en suero por medio del glucógeno en hígado. (Shabarana, et al., 2004).

#### **4.5.1.4. Ginseng rojo coreano (*Panax ginseng*):**

Kyong en 2008 realizó un estudio *in-vitro* para ver si el extracto de esta planta ejerce poder hipoglucémico por la estimulación de las células  $\beta$  del páncreas, con la consiguiente liberación de insulina. El extracto de la raíz del *Ginseng rojo* Coreano (*Panax ginseng*) se preparo con: 100 g de polvo de raíz de *Ginseng rojo* y se extrajo con etanol por 5 h a reflujo y posteriormente se filtro. El filtrado se concentró por evaporación.

Aislación de islotes: Los islotes de Langerhans para la prueba *in-vitro* se obtuvieron por digestión de colagenasa en una solución buffer. Los islotes se dividieron en dos grupos: grupo 1 se le agrego el extracto a 0.05 mg/mL, grupo 2 con extracto a 1 mg/mL, posteriormente cada grupo se dividió en tres para probar con tres diferentes concentraciones de glucosa 3.3 mM, 8.4 mM y 16.7 mM, se incubaron durante 60 min a 37°C y por último se midió la cantidad de insulina en cada grupo con las tres diferentes concentraciones de glucosa.

Los resultados muestran claramente que el extracto del *Panax ginseng* rojo estimula la liberación de insulina por los islotes aislados en un rango de concentraciones de 0.05 a 1.0 mg/mL. La dosis terapéutica del extracto de *Panax ginseng rojo* recomendada es de 1 g en tres diferentes tiempos durante el día. (Kyong, et al., 2008)

## 4.6. ESTIMULACIÓN DEL CANAL DE SALIDA DE LA GLUCOSA

### 4.6.1. *Guazuma ulmifolia*:

Para realizar esta prueba se utilizó el extracto de la corteza de la planta *Guazuma ulmifolia* en una línea de células de pre-adipocitos. Esta línea corresponde a dos diferentes vías: por la amplificación clonal y por el incremento del canal de salida en adipocitos maduros. Primero se evaluó el extracto de *Guazuma ulmifolia* en la adipogénesis en la línea celular; los resultados en un primer tiempo mostraron que el extracto no produce adipogénesis en la línea celular. Esta propiedad es deseable en cualquier droga antidiabética.

Las células de la línea celular de adipocitos son altamente sensitivas a la insulina, ellas representan adipocitos normales en lugar de adipocitos diabéticos.

El extracto crudo se preparó con 100 g de la corteza de la planta en 1 L de agua bidestilada y se puso a reflujo durante 2 h. Después el extracto se centrifugó y el sobrenadante se filtró y liofilizó, produciendo 5.4 de extracto seco.

El extracto de la planta no afecta la adipogénesis de la línea celular: La determinación del efecto del extracto en el desarrollo de tejido adiposo. En el medio adipogénico en ninguna de las concentraciones del extracto se mostró que se ejerciera efecto anti-adipogénico o pro-adipogénico en la línea celular. También se ensayó el efecto del extracto en el medio adipogénico deficiente de insulina para determinar si el extracto ejerce actividad propia de la insulina, de ese modo estimulando la adipogénesis.

Se establece que el extracto de *Guazuma ulmifolia* estimula el canal de salida de la glucosa por los adipocitos, el efecto del canal de salida se evaluó con una solución de 2-[N-(7-nitrobenzeno-2-oxa-1,3-diazo-4-yl)amino] en diferentes adipocitos. El canal de salida es estimulado por el extracto en las células a concentraciones dependientes.

En resumen los resultados mostraron que el extracto ejerce propiedad antidiabética estimulando el canal de salida de glucosa en los adipocitos, en la insulina sensible y la insulina resistente. Sin afectar el desarrollo del tejido adiposo. La habilidad del extracto de inducir el canal de salida de la glucosa en la resistencia a la insulina en los adipocitos. Se sugiere que el extracto de esta planta puede usarse en el tratamiento de la diabetes tipo II. (Alonso, et al., 2008)

**3.12. Tabla 19. PLANTAS CON EFECTO HIPOGLICEMICO QUE NO HAN SIDO ESTUDIADOS SUS MECANISMOS DE ACCIÓN**

<b>Nombre científico</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Parte de la planta</b>	<b>Compuestos principales</b>
1- <i>Cynodon dactylon</i> (India)	Doob	Hojas y ramas	Flavonoides, esteroides
2- <i>Helicteres isora</i> (India)		Raíz	No se aislaron
3- <i>Ibervillea sonora</i> (México)	Guareque	Raíz	Fenoles, esteroides
4- <i>Salvia officinalis</i> (Irán)	Salvia	Hojas	No se aislaron
5- <i>Tournefortia hartwegiana</i> (México)	Hierba rasposa	Hojas y ramas	Fenoles, alcaloides
6- <i>Tournefortia hirsutissima</i> (México)	Lagrima de san Pedro	Tallo	No se aislaron

1-Alarcon, et al., 2004; 2- Eidi, et al., 2005; 3-Ortiz, et al., 2005; 4-Kumar, et al., 2006; 5-Kumar, et al., 2007; 6-Andrade, et al., 2007.

## 5. CONCLUSIONES

- La situación de diabetes mellitus tipo II en México en 1995, se encontraba en el noveno lugar con 4 millones de pacientes diabéticos, y se espera que para el año 2025, ocupe el séptimo lugar con 12 millones de pacientes diabéticos, ocupando el primer lugar la India con 19 millones en 1995 y 57 millones para el 2025.
- Los estados con mayor incidencia de diabetes mellitus tipo II son: Coahuila, Tamaulipas, Veracruz, Hidalgo, Edo. de México, Morelos, Jalisco, Puebla y San Luis Potosí.
- Los flavonoides, alcaloides, polifenoles, esteroides, tocoferoles, táninos, ácido clorogénico y la fibra dietética, son los compuestos principales de las plantas estudiadas que mostraron ejercer un efecto hipoglucémico.
- El uso de algunos polisacáridos como la fibra dietética tienen la propiedad de reducir los niveles de glucosa en sangre, pues estos aumentan la viscosidad del bolo alimenticio, evitando así la absorción de la glucosa y su paso al torrente sanguíneo.
- Los antioxidantes presentes en las plantas promueven la actividad de las enzimas Superóxido dismutasa y Catalasa responsables de la inhibición de la peroxidación lipídica, demostrados en estudios in-vivo e in-vitro, disminuyendo la formación de ROS, que son las causantes del estrés oxidativo y de dañar a las células  $\beta$  del páncreas.
- Los principios activos de algunas plantas como: *Vatairea macrocarpa* y *Capparis decidua* tienen la capacidad de inhibir algunas enzimas clave como la glucosa-6-fosfatasa y la fosfoenol piruvato carboxilasa en la gluconeogénesis, contribuyendo así, a la reducción de la glucosa en sangre.

- El extracto de la planta *Rosmarnus officinalis* ejerce una actividad hipoglucémica muy similar al fármaco glibenclamida, inhibe la peroxidación lipídica y activa las enzimas antioxidantes SOD y CAT.

- El alto contenido de polifenoles presentes en la planta de *Camellia sinensis* son los responsables del incremento de la enzima glutatión peroxidasa, necesaria para la inhibición de la peroxidación lipídica.

El aceite de *Myrtus communis* y *panax ginseng*, poseen la capacidad de inhibir la peroxidación en la diabetes, resultando una disminución en la síntesis de sustancias reactivas de oxígeno.

- La actividad de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa es inhibida por los compuestos de los extractos de algunas de las plantas estudiadas como: *Tecoma stans* y *Acorus calamus*, pues estas reducen los niveles de glucosa en sangre, exhibiendo una actividad muy similar a los fármacos estándar.

- La estimulación en la liberación de insulina en una línea celular tratada con los extractos de las plantas *Acorus calamus*, *Costus pictus*, *Caesalpinia bonducella* y *Panax ginseng*, muestran un efecto superior al del fármaco utilizado como control.

- El canal de salida de glucosa en los adipocitos es estimulado con el tratamiento del extracto de la planta *Guazuma ulmifolia*, observándose una disminución de la glucosa.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Abdel-Barry, J.A., Abdel-Hassan, I.A., Al-Hakiem, M.H.H., 1997. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 58: 149-155.
2. Abesundra, K.J., Matsui, T., Matsumoto, K., 2004. Alfa-glucosidase inhibitory activity of some Sri Lanka plant extracts, one of which, *Cassia auriculata*, exerts a strong antihyperglycemic effect in rats comparable to therapeutic drugs acarbose. *Journal of Food Chemistry*. 52: 2541-2545.
3. Adeyene, A. A., Adeleke, T. I., Adeyene, A. K. 2007. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of the aqueous fresh leaves extract of *Clerodendrum Capitatum* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 7-10.
4. Achyut, N. K., Shweta, K., Shweta, K. 2007. Studies on the glycemic and lipidemic effect of *Murraya Koenigii* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*. 112: 305-311.
5. Alarcon-Aguilar, F.J., Calzada-Bermejo, F., Hernandez-Galicia, Ruiz-Angeles C., Roman-Ramos R. 2005. Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea Sonorae*. *Journal of Ethnopharmacology*. 97: 447-452.
6. Aguilar-Santmaría, L., Ramírez, G., Nicasio, P., Alegría-Reyes, Herrera-Arellano, A. 2009. Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L) Juss ex Kunt. *Journal of Ethnopharmacology*. 124: 284-288.

7. Alonso-Castro, A.J., Salazar-Olivo, L. A., 2008. The anti-diabetic properties of *Guazuma ulmifolia* Lam are mediated by the stimulation of glucose uptake in normal and diabetic adipocytes without inducing adipogenesis. *Journal of Ethnopharmacology*. 118: 252-256.
8. Alonso-Castro, A. J., Miranda-Torres, A.C., González-Chávez, M.M. 2008. *Cecropia obtusifolia* and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. *Journal of Ethnopharmacology*. 101: 458-464.
9. Andrade-Cetto, A., Martínez-Zurita, E., Helmut, W. 2005. Hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 319-322.
10. Andrade-Cetto, A, Heinrich, M. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 99: 325-348
11. Andrade-Cetto, A., Revilla-Monsalve, C., Helmut Wiedenfeld., 2007. Hypoglycemic effect of *Tournefortia Hirsutissima* L., on n-streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 112: 96-100.
12. Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J. Cárdenas-Vázquez, R. 2007. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type II. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 27-32.
13. Andrade-Cetto, A., Cárdenas Vázquez, R. 2010. Gluconeogenesis inhibition and phytochemical composition of two *Cecropia* species. *Journal of Ethnopharmacology*. 130: 93-97.

14. Ashcroft, F.M., Gribble, F. M., 1999. ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetology* 42: 903-919.
15. Badui, S. 2006. "Química de los Alimentos". 4ª. Edición. Editorial Pearson Educación. México. 75, 76, 78.
16. Balfour, J.A., McTavish, 1989 Acarbose. An update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus *Drugs* 46: 1025-1054
17. Baxter J. D. 1995. "Endocrinología básica y clínica". 2ª. Edición. Ed. El Manual Moderno S.A. México, D.F. 665.
18. Bhavna, S., Rajani, S., Chandrejeet, B., Supriya, D., Partha, R., 2009. Anti-diabetic of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 127: 457-462.
19. Buitrago, C. "Bioquímica clínica". 1998. 4ª. Edición. Ed. Mc Graw Hill Interamericana. Zaragoza, España. 339, 342,343,353,354.
20. Bruneton, J. 2001. "Farmacognosia Fitoquímica Plantas medicinales". 2ª. Edición. Ed. Acribia. Zaragoza España. 2, 78-80, 80, 101.
21. Calandra, R. S. de Nicola, A. F. 1985. "Endocrinología Molecular". 2ª. Edición. Ed. Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 178, 179.
22. Casanueva, E., Kaufer-Horwitz M, Pérez. L. A. B., Arroyo P., 2004. 2ª. Edición. "Nutriología Médica". Ed. Médica Panamericana. México. D.F. 371,373, 385.
23. Ceriello, A., 2003. New insights on oxidative stress antidiabetic complications may lead to a causal antioxidant therapy . *Diabetes Care* 26: 1589-1596.

- 24.** Chang-Hwa, J., Ho-Moon, S., In-Wook, C., Hee-Don, C., 2004. Effects of wild ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) leaves on lipid peroxidación levels and antioxidant enzyme activities in estreptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 98: 245-250.
- 25.** Cervera, P., 1993 “Alimentación y Dietoterapia”. 2ª. Edición. Ed. Interamericana Mc. Graw Hill. Madrid, España. 279,281.
- 26.** Chien-Chih, C., Chia-Yun, H., Chin-Ying, C., Hui-Kang, L. 2008. *Fructus Corni* Suppresses hepatic gluconeogenesis related gene transcription, enhances glucose responsiveness of pancreatic beta-cells, and prevents toxin induced beta-cell death. *Journal of Ethnopharmacology*. 117: 483-490.
- 27.** Domingues, B. P., Pavani, D. S. M., Mitsuo, A. G., de Lima R. S.R., Queiroz, L. M., da Sila, V. 2010 Mechanism of anti-hyperglycemic action of *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae): Investigation in peripheral tissues. *Journal of Ethnopharmacology*. 115: 135-39.
- 28.** Eidi, M., Eidi, E., Hamidreza, Z. 2005. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 310-313.
- 29.** Fennema O. R. 1993. “Química de los Alimentos”. 4ª. Edición. Ed. Acribia. Zaragoza España. 725.
- 30.** García-Valle, J. 2004. *Tamarindus indica*. Estudio de su actividad hipoglucemiante y aislamiento de antioxidantes en la cascara de la semilla de Tamarindo. Tesis de Licenciatura. México. Págs. 6-47.

- 31.** Garrido, P. A., Olmo R. 2001. "Bioquímica Metabólica". 3ª. Edición. Ed. Tebar. México. D.F. 11, 14,17,19.
- 32.** Gireesh, G., Santhosh, K., Thomas., Binoy, J. 2009. Antihyperglycemic and insulin secretory activity of *Costus pictus* leaf extract in streptozotocin induced diabetic rats and in *in vitro* pancreatic islet culture. Journal of Ethnopharmacology. 123: 470-474.
- 33.** Goksel, G., Mehmet, Z. H. 2007. Evaluation of antidiabetic, antioxidant and vasoprotective effects of *Posidonia oceanica* extract. Journal of Ethnopharmacology. 115: 122-130.
- 34.** Hemmerle, H., Burguer, H. J., Below, P., Schubert, G., Rippel, R., Schidler, P.W., Pulus, E., Herling, A.W.1997 .Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. Journall of Medical Chemistry. 99: 137-145.
- 35.** Jasemine, S., Radhey, S., Sushil, K. S. 2009. Antidiabetic and antioxidant effect of various fractions of *Phyllanthus simplex* in alloxan diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 124: 34-38
- 36.** Jean, A., Fragne, R. 1990 "La Ciencia de los alimento de la A a la Z". Ed. Acribia, Zaragoza España. 128.
- 37.** Jothivel, N., Ponnusamy, S.P., Appachi, M., Singaravel, S., Rasilingam, D., Deivasigamani, K., Thangavel, S., 2007. Anti-diabetic activity or methanol extract of *Costus pictus* D. Don in alloxan induced diabetic rats, journal of Health science 53: 655, 663.
- 38.** Kalkech-Cordero Y. 2002. Evaluación del efecto hipoglucemiante de los extractos de *Tamarindus indica* Lin en ratones. Tesis de Licenciatura. UNAM. México.

- 39.** Koolman J., Heinrich R. K. 2004. "Bioquímica Texto y Atlas". 3ª. Edición. Ed. Médica Panamericana. S.A. Madrid España. 150, 154,156 y 160.
- 40.** Kyong, K., Hye, Y., K. 2008. Korean red ginseng stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology*.120: 190-195
- 41.** Kumar, G., Sharmila, B., Murugesan A. G., Rajasekara, P. M. 2006. Hypoglycemic effect of *Helicteres isora* Bark extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 304-307.
- 42.** Maiti, R., Jana, D., Das, U.K., Ghosh, D. 2004. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamatindus indica* instreptozotcin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 92: 85-91.
- 43.** Mazza, G, Ph. D. 2000 "Alimentos Funcionales Aspectos Bioquímicos y de Procesado". 1ª. Edición. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza España. pp 20.
- 44.** Mei-Mei, S., Jian-Shu, L., Chang-Xin, Z., Juan-Na, S. 2010. Insulin releasing and alpha-glucosidase inhibitory activity of ethyl acetate fraction of *Acorus calamus* in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*. 128: 154-159.
- 45.** Montgomey R., Ph D., SC Thomas W. Conway., Ph. D Arthur A. 1993. "Bioquímica casos y texto". 5ª. Edición. Ed. Mosby-Year Book. Barcelona España. 248.
- 46.** Ortiz-Andrade., Rodriguez-López, V., Garduño-Ramírez, M .L., 2005. Anti-diabetic effect on alloxanize and normglycemicrats and some pharmacological evaluations of *Tournefortia hartwegiana*. *Journal of Ethnopharmacology*. 101: 37-42.
- 47.** Pokorny J. 2005." Antioxidantes de los alimentos Aplicaciones Prácticas". 3ª. Edición. Ed. Acribia, Zaragoza España. 212.

- 48.** Pushparaj, P., T, C.H., Tan, B.K.H., 2000. Effects of *Averhoa bilimbi*, leaf extract on blood glucose an lipids in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 98: 69-76.
- 49.** Pushparaj, P.N., Low H.K., Manikandan, J. 2006. Anti-diabetic effects of *Cichorium intibus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 111: 430-434.
- 50.** Rahimi, R., Nidfar, S., Larijani, B., Abdollahi, M. 2005. A review the antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicina and pharmacotherapy*. 59: 365-373.
- 51.** Rajesh, K. G. Achyut, N. K. Sandhya D. Ameetabh. T., Vibha, T., Ramesh, C., Geeta, W. 2008. In vivo evaluation of anti-oxidant and anti-lipidimic potential of *Annona squamosa* aqueous extract in Type 2 diabetic models. *Journal of Ethnopharmacology*. 118: 21-25.
- 52.** Revilla-Monsalve, M.C., Andrade Cetto, A., Islar, S, Wiedefeld., 2002. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum*. aerea parts on type II diabetic Patients. *Journal of Ethnopharmacology*, 81: 117-120.
- 53.** Rodríguez, O. J. 2005. *Experto en Fitoterapia*. 3<sup>a</sup>. Edición. Editorial Formación Alcala. Andalucía, España. 15.
- 54.** Sabu, M.C., SmithaK., RamadasanKuttan. 2002. Anti-diabetic of green tea polyphenols and their rele in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 83: 109-116.
- 55.** Santosh, K. S., Achyut, N. K., Rajesh, K.G., Dolly, J., Geeta, W. 2007. Assessment of antidiabetic potential of *Cynodon Dactylon*. *Journal of Ethnopharmacology*. 114: 174-179.

- 56.** Sepici-Dincel, A., Sereften, A., Cemal, C., Meltem, S., Erdem, Y. 2006. Effects in of vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*. 110: 498-503.
- 57.** Sharabana, C., Tuhin, K. B., Tapan, S., Begum, R., Liaquat, A. 2004. Antidiabetic activity of *Caesalpinia bonducella* F. in chronic type II diabetic model in Long-Evans rats and evaluation of insulin secretagogue property of its fractions on isolated islets. *Journal of Ethnopharmacology*. 97: 117-122.
- 58.** Sy, G.Y., Cissé A., Nongonierma, R.B., Sarr, M., Mbodj, N.A., Faye, B. 2005. Hypoglycemic activity of acetic extract of *Vernonia colorata* leaves in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 98: 171-175.
- 59.** Stuart, A.R., Gulve, E.A., Wang, M., 2004. Chemistry and biochemistry of type II diabetes. *Chemical Reviews*. 104: 1255-1282.
- 60.** Tang, L., Wei, W., Chen, L., Liu, S., 2006. Effects of berberina on diabetes induced by alloxan a high cholesterol diet in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 108: 19-15
- 61.** Tolonen, M. 1995 "Vitaminas y minerales en salud y la nutrición". 2ª. Edición. Ed. Acribia, Zaragoza España. 101-103, 105.
- 62.** Tülay, B., Utku, B., Oya, Ü. K., Sinem, G. Ü., Hasret, Y. 2007. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 64-73.
- 63.** Yyhao, L., Wen, S., Prasad-Kota, B., Peng, G., Qian-Li, G., Yamahar, J., Roufogalis, B.D., 2005. *Punica granatum* flower extract, a potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 99: 239-244.