



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Estudio del efecto hipoglucemiante de *Bromelia plumieri* (E. Morr.) L.B. Smi. en ratas tratadas con NA-STZ

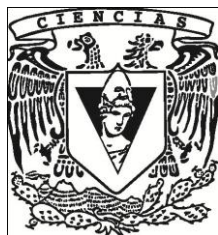
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

Anamarel Edzná Medina Hernández



DIRECTOR DE TESIS:

DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL

AVENIDA DE

MEXICO

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ

JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

P R E S E N T E

FACULTAD DE CIENCIAS
COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
UNIDAD DE ENSEÑANZA

OF. No. FCIE/CALB/U.E./0597/12

ASUNTO: Asignación de jurado

Por este medio, el Comité Académico de la Licenciatura en Biología informa a usted que el día 21 de septiembre de 2012, aprobó que la alumna:

Anamarel Edzná Medina Hernández

con número de cuenta 304323391, presentará el trabajo titulado:

Estudio del efecto hipoglucemiante de Bromelia plumieri (E. Morr.) L. B. Smi. en ratas tratadas con NA-STZ

correspondiente a la opción de **Tesis**.

Asimismo, este comité informa a usted que el tutor y los sinodales autorizados para la dirección y revisión del trabajo arriba señalado son:

Presidente: Dr. Manuel Miranda Anaya

Vocal: Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero

Secretario: Dr. Adolfo Andrade Cetto
Tutor

Suplente: Dra. Eva Aguirre Hernández

Suplente: Biól. Isabel Mejía Luna

En consecuencia, este Comité solicita a usted se entregue a la citada alumna la papelería que conforme a la normatividad aplicable, debe llenar, se proceda a la elaboración de los votos aprobatorios y se dé inicio al proceso de revisión de estudios correspondientes.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Ciudad Universitaria, D. F., a 28 de septiembre de 2012.

EL COORDINADOR DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA

DR. PEDRO GARCÍA BARRERA

PGB/vgc*

FACULTAD DE CIENCIAS



**UNIDAD DE ENSEÑANZA
EN BIOLOGÍA**

Este trabajo está dedicado a mi familia,
en especial a mis padres, a mi hermano,
a mis abuelos y tías abuelas,
pero sobre todo a
a mi **Aulolo**,
a quién siempre tengo en mi corazón.

También está dedicado a mis amigos,
a todos los que creyeron en mí, y
en especial a Christian
con quien la vida se ha hecho más dulce.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por las oportunidades para desarrollarme profesionalmente y por abrir las puertas para constituirme como una mejor persona.

A **CONACyT** Ciencia Básica por financiar este trabajo a través del proyecto 151264, y al proyecto **PAPIIT** IN228510 por el financiamiento y la beca otorgada.

Al **Dr. Adolfo Andrade Cetto** por permitirme realizar este proyecto, por su paciencia, su confianza, su apoyo y por no perder las esperanzas en mí.

A mis sinodales:

Al **Dr. Manuel Miranda Anaya** por sus comentarios y aportaciones realizadas a este trabajo.

Al **Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero** por su interés, por sus valiosas sugerencias y por las pláticas tan interesantes en la revisión de este proyecto.

A la **Dra. Eva Aguirre Hernández** por su gran aportación en la parte de Cromatografía en Capa Fina de este trabajo, por sus sugerencias, interés, amabilidad y por su paciencia.

A la **Biól. Isabel Mejía Luna** por su gran ayuda en la realización de este proyecto, por sus observaciones en la revisión de la tesis, por su apoyo tanto académico como personal, pero sobre todo por su cariño y afecto.

Al **M. en C. Agustín Carmona Castro** por su apoyo en el manejo de animales del Bioterio, así como por sus observaciones en la revisión de este trabajo.

A la **M. en C. Ana Laura Soto Constantino** y a la **Biól. Jazmín Samario Román** por su amistad y por sus grandes aportaciones en la revisión de la tesis.

Al **Dr. Darío Iker Tellez Medina** por sus comentarios y por su cariño.

También agradezco a todos mis profesores, en especial a la **Dra. Laura Kawasaki Watanabe** y al **M. en C. Octavio González Caballero** por abrirme un mundo nuevo de posibilidades.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A **Dios** por darme una gran familia y por permitirme terminar este proyecto.

A mis **padres** por su amor y cariño con el que aprendo a afrontar obstáculos, por los hermosos recuerdos de mi niñez, y por su apoyo para concluir esta etapa de mi vida, a la **Eldita** porque cada mañana lleva una nueva noticia hasta mí y por compartir sus lecturas y acercarse a las mías, y a mi papo por seguir cuidándome y consintiéndome aunque no nos veamos a diario.

A **Martí** por su confianza, su cariño, por intentar comprenderme y por ser mi ejemplo de perseverancia.

A mis **abuelos** por su amor incondicional, a mi abuela **Aurora** y abuelo **Tiburcio** por su sabiduría con la que sin saberlo me alentaron a adentrarme en este mundo de la biología.

A mis tías **Chabelita**, **Carmen** y **Tina**, por cada anécdota, cada guiso, y por siempre mostrarme su cariño.

A mis tías y tíos que siguieron alentándome con cada uno de sus gestos. A mis tías **Nena**, **Lupe** y **Queta** por estar siempre cuidándome y queriéndome a pesar de la adversidad. A mi tía **Nery** y mi tío **Mario** por apoyarme en los momentos difíciles y estar al pendiente de mis prácticas de campo.

A mis **primos** que sin saberlo me recordaban mi amor por el estudio, Caro, Alejandra, Mario, Victor, Beto, Mariana, Itzel, Katy, Liz, y en especial a Pepino a quien de verdad creo que debería ser biólogo y a Carlos a quien quiero recordarle que puede lograr lo que se proponga.

A mis sobrinos que con sus inquietudes y gestos me hacen aprender cada vez más.

A mis amigas inseparables **Elva** y **Paola** con quienes inicié este viaje, que cuidaron de mí en las prácticas de campo y siguen cuidándome en todos los sentidos. Las quiero mucho.

A mis **amigos** de ahora y siempre: Marlene, Jaime, Anabol, Alejandra, Pilar, Laurita, Tamara y Teresita, con quienes compartí y descubrí nuevos objetivos.

A mis **amigos** del Laboratorio, en especial a Paty, a Jaz, Anita, Luisita, Palapa.

A **Christian** por ser pieza fundamental en mi vida, por enseñarme nuevos horizontes y querer volar junto a mí para explorarlos.

Y a la Dra. Laura y a Andrea por ayudarme de miles de maneras posibles. Gracias.

Índice general

Resumen.....	1
I. Introducción.....	3
1. Antecedentes.....	4
1.1. Diabetes mellitus.....	4
1.1.1. Secreción de insulina.....	5
1.1.2. Vías de señalización de la insulina.....	6
1.1.3. Complicaciones de la diabetes.....	7
1.1.4. Diagnóstico de la diabetes.....	8
1.1.5. Clasificación de la diabetes.....	9
1.2. Diabetes tipo 2.....	10
1.3. Diabetes en México.....	12
1.4. Hipoglucemiantes orales.....	13
1.4.1. Sulfonilureas.....	14
1.5. Plantas medicinales hipoglucemiantes en México.....	17
1.6. Fitoquímica.....	18

1.6.1. Cromatografía en capa fina (CCF)	19
1.7. Modelos experimentales utilizados en el estudio de diabetes tipo 2.....	20
1.7.1. Modelo NA-STZ.....	21
1.8. <i>Bromelia plumieri</i> (E. Morren) L.B. Sm.....	23
II. Justificación.....	28
III. Objetivos.....	28
IV. Hipótesis.....	29
V. Materiales y métodos.....	30
5.1. Colecta y procesamiento de <i>Bromelia plumieri</i>	30
5.2. Preparación de extractos de <i>B. plumieri</i>	31
5.2.1. Extractos para pruebas farmacológicas.....	31
5.2.2. Extractos adicionales para pruebas fitoquímicas.....	31
5.3. Cálculo de DER (Drug extract ratio)	34
5.4. Animales de experimentación.....	34
5.5. Inducción de diabetes experimental NA-STZ.....	34
5.6. Medición de glucosa.....	35

5.7. Dosis de <i>B. plumieri</i>	35
5.8. Dosis de hipoglucemiante oral.....	35
5.9. Diseño experimental.....	36
5.10. Identificación preliminar de metabolitos secundarios por CCF.....	37
5.11. Estadística.....	38
VI. Resultados.....	39
VII. Discusión.....	44
VIII. Conclusiones.....	50
IX. Literatura citada.....	51
ANEXO 1 (Reveladores).....	57
ANEXO 2 (Reacción de SHINODA).....	58

Índice de figuras y cuadros

Figuras:

Fig. 1. Efecto de la insulina en músculo esquelético, tejido adiposo e hígado. (Tomado de Levy, et al., 2006).

Fig. 2. Estructura química esencial de las sulfonilureas. R1 son los sustituyentes de la posición para del anillo bencénico, mientras que R2 representa los sustituyentes en el nitrógeno del grupo urea.

Fig. 3. Sulfonilureas mimetizan la acción de la glucosa al inhibir los canales de K^+ dependientes de ATP y estimular la secreción de insulina (Tomado de Cheng y Fantus, 2005).

Fig. 4. Estructuras químicas de la estreptozotocina (STZ) y Nicotinamida (NA)

Fig. 5. Distribución de *B. plumieri* (*E. Morren*) *L.B. Sm.* (Bioversity International, 2012)

Fig. 6. Fotos de *B. plumieri* y sus frutos tomadas en San Simón, municipio de Tepehuacán de Guerrero, Hidalgo, por Christian Alan Cabello Hernández y el autor.

Fig. 7. Protocolo de obtención de extracto hexánico y butanólico de las hojas de *B. plumieri*.

Fig. 8. Placas de CCF para detectar flavonoides. A) Flavonoides glicosilados, B) Flavonoides agliconas. 2= extracto butanólico, 3= extracto etanol-agua, 4= extracto acuoso, 5= jugo de frutos liofilizado.

Fig. 9. Placa de CCF para detectar terpenos. 1= extracto hexánico, 2= extracto butanólico, 3= extracto etanol-agua, 4= extracto acuoso, 5= jugo de frutos liofilizado.

Fig. 10. Placas de CCF para detectar alcaloides, Q= quinina, 1= extracto hexánico, 2= extracto butanólico, 3= extracto etanol-agua, 4= extracto acuoso, 5= jugo de frutos liofilizado.

Cuadros:

Cuadro 1. Valores de glucosa utilizados para el diagnóstico de diabetes (Conget, 2002).

Cuadro 2. Clasificación botánica de *Bromelia plumieri* (Modificado de SIIT*mx, 2009)

Cuadro 3. Diseño experimental

Cuadro 4. Rendimiento (DER)

Cuadro 5.- Efecto hipoglucemiante de *B.plumieri* en ratas tratadas con NA-STZ

Cuadro 6. Metabolitos secundarios detectados por medio de CCF.

Cuadro 7- Coloración con reacción de SHINODA (Oscanoa, 2005)

RESUMEN

En México se estima que 7.3 millones de mexicanos padecen diabetes, siendo su tratamiento de suma importancia, ya que esta enfermedad se ha convertido en la principal causa de muerte en el país. Una parte importante de la población utiliza la herbolaria tradicional para su tratamiento, por lo que es necesario investigar sobre su eficacia y seguridad para los consumidores, aunado a ello este conocimiento podría dar pie a encontrar alternativas terapéuticas de bajo costo.

Dentro de ese contexto, de acuerdo con estudios del Laboratorio de Etnofarmacología, de la Facultad de Ciencias, UNAM, las hojas de *Bromelia plumieri* (piñuela) son utilizadas por la comunidad de Tlanchinol, en el estado de Hidalgo, México, para el tratamiento de la diabetes; sin embargo, no existen investigaciones farmacológicas que lo comprueben, por lo que en este trabajo se realizó un estudio para determinar el potencial efecto hipoglucemiante de esta planta; para ello se recurrió al modelo animal propuesto por Masiello, et al. (1998) de inducción de diabetes experimental con nicotinamida (NA-230mg/kg) y estreptozotocina (STZ- 65mg/kg).

B. plumieri se colectó en la localidad de San Simón, municipio de Tepehuacán de Guerrero, Hidalgo; el procesamiento de la planta y la preparación de los extractos se realizaron en el Laboratorio de Etnofarmacología. Se prepararon extractos para pruebas farmacológicas (extracto acuoso y etanol-agua), así como extractos adicionales para pruebas fitoquímicas (extracto hexánico, butanólico, y jugo de frutos liofilizados).

Las pruebas se realizaron en 7 grupos (3 control y 4 experimentales) con 11 animales cada uno (Ratas Wistar): A. Control no diabético, B. Control diabético, C. Control diabético + hipoglucemiante oral, Grupo D y E. Diabético + Extracto acuoso a dosis 0.35 y 0.035 g/kg; Grupo F y G. Diabético + Extracto etanol-agua a dosis 0.3 y 0.03 g/kg.

De acuerdo con los resultados analizados con ANOVA, los dos extractos, en sus dosis mayor y menor, tuvieron un efecto hipoglucemiante al compararlo contra su propio tiempo y contra el grupo control diabético, existiendo una diferencia entre el tiempo de inicio de la actividad solamente entre el grupo diabético + extracto acuoso entre sus dosis mayor y menor.

Para las pruebas fitoquímicas se utilizó la técnica de Cromatografía en Capa Fina (CCF) para detectar metabolitos secundarios que pudieran estar involucrados en el efecto hipoglucemiante, observándose una gran variedad de flavonoides en todos los extractos probados; la detección de terpenos fue positiva solo para los extractos de hojas de *B. plumieri*. No se encontraron alcaloides en ningún extracto.

Se puede concluir que los extractos acuoso y etanol-agua presentan un efecto hipoglucemiante en ratas NA-STZ, sin embargo, son necesarios más estudios para entender su mecanismo de acción, determinar su eficacia y seguridad, así como su potencial como alternativa terapéutica.

I. Introducción

La diabetes es una enfermedad crónica degenerativa que deriva en complicaciones micro y macro vasculares a largo plazo y se caracteriza por hiperglucemia. Se calcula que en el mundo existen más de 346 millones de personas con diabetes, cifra que se espera se duplique para 2030 (WHO, 2011).

En México, una importante parte de la población con diabetes llega a utilizar plantas para su tratamiento con o sin medicación biomédica (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), en gran medida por ser de bajo costo y fácil acceso en comparación con la medicina alópata. Debido a esto es necesaria la investigación farmacológica, de manera que se pueda validar la eficacia de estas y dar seguridad a los consumidores.

Por otro lado, el gran conocimiento sobre medicina tradicional, en específico sobre la herbolaria, representa un recurso viable para encontrar nuevos tratamientos para la diabetes, así como para otras enfermedades degenerativas (Figuroa, 2009).

Dentro de las plantas reportadas como hipoglucemiantes, en el contexto de medicina tradicional, se encuentra *Bromelia plumieri* (E. Morren) L.B. Sm. (Flora of Kaxil Kiuic, 2005, Díaz, 1976). En estudios llevados a cabo por el Laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM, en la comunidad de Tlanchinol, Hidalgo, indican que las hojas de esta planta son utilizadas en forma de té para el tratamiento de la diabetes, por lo que en este trabajo se estudió su potencial efecto hipoglucemiante por medio de

dos extractos (acuoso y etanol-agua) en un modelo animal de diabetes experimental inducido con NA- STZ.

1. Antecedentes

1.1. Diabetes mellitus

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (WHO por sus siglas en inglés), la diabetes es considerada como un desorden metabólico de etiología múltiple que se caracteriza por hiperglucemia crónica, la cual va acompañada de modificaciones en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos, debido a una deficiencia en la secreción de insulina, a la acción ineficaz de esta hormona o una combinación de ambas (WHO, 2006).

La insulina, que es la hormona secretada por las células β pancreáticas, regula de manera importante la homeostasis nutricional del cuerpo (conjunto de mecanismos fisiológicos implicados en la digestión, absorción, almacenamiento, utilización de nutrientes y gasto energético), ya que disminuye las concentraciones plasmáticas de glucosa, ácidos grasos libres, cetoácidos y aminoácidos al promover su almacenamiento e inhibir su liberación. Actúa principalmente en músculo esquelético, tejido adiposo, e hígado (Murrow y Hoehn, 2010).

Para entender con más detalle el papel de la insulina en el desarrollo de esta enfermedad, se describirá brevemente el mecanismo de secreción de esta hormona y sus vías de señalización.

1.1.1. Secreción de insulina

Existe una secreción basal pulsátil entre comidas y en ayuno prolongado. Ante un estimulante, esta secreción es bifásica, consistiendo en una primera fase rápida que ocurre a los primeros 10 minutos después de la estimulación, y una segunda fase que es más larga y sostenida. El estimulador más importante de la liberación de la insulina es la glucosa (Muoio y Newgard, 2008).

En las células β pancreáticas la glucosa atraviesa la membrana plasmática a través de un transportador específico de glucosa (GLUT 2), siendo inmediatamente fosforilada a glucosa 6-fosfato por la glucocinasa. Los productos del metabolismo de la glucosa, incluidos ATP, NADH, y NADPH, aumentan y se cierran los canales de K^+ dependientes de ATP. Este proceso despolariza la membrana celular desencadenando la apertura de los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje; el flujo de Ca^{2+} aumenta y permite la exocitosis de las vesículas que contienen insulina. Así mismo, la glucosa estimula la síntesis de la insulina al elevar la tasa de transcripción del gen de la insulina y la tasa de traducción de su ARN mensajero. Las proteínas G, ligadas a la adenil-ciclasa y a la fosfolipasa C inducen las acciones estimuladoras e inhibitoras de otros moduladores de la secreción de insulina a través de las modificaciones de la cantidad de AMP cíclico, productos del fosfatidilinositol y diacilgliceroles. Otras hormonas peptídicas gastrointestinales como el péptido inhibidor gástrico, la gastrina, la secretina, la colecistocinina y el péptido similar al glucagón (GLP-1), al ser liberados por las células intestinales después de una comida, pueden estimular la secreción de insulina. Parte de

los aminoácidos resultantes de la digestión de las proteínas de la comida actúan sinérgicamente con la glucosa para estimular a las células β (Levy, et al, 2006).

1.1.2. Vías de señalización de la insulina.

La insulina se une a su receptor de membrana (IR) provocando su autofosforilación; este proceso permite el reclutamiento y la consecuente fosforilación de proteínas de andamiaje incluyendo las del substrato receptor de insulina (IRS). La activación de estas proteínas inicia cascadas de fosforilaciones en serinas y treoninas en diversas moléculas intermediarias (Muio y Newgard, 2008, Levy, et al, 2006).

En músculo esquelético y en tejido adiposo, la insulina estimula la captación de glucosa a través de la exocitosis del transportador de glucosa regulado por insulina isotipo 4 (GLUT 4). En el músculo e hígado, la insulina estimula la formación de glucógeno a partir de glucosa-6-fosfato (glucogénesis) activando la glucógeno sintetasa, así mismo, aunque en menor grado, estimula la glucólisis y la oxidación de glucosa. En tejido adiposo estimula la producción de alfa-glicerol fosfato a partir de las triosas fosfato intermediarias de la glucólisis, la cual se emplea para esterificar ácidos grasos libres y almacenarlos en forma de triglicéridos. En hígado la insulina inactiva la glucógeno fosforilasa, inhibiendo la gluconeogénesis. (Murrow y Hoehn, 2010, Levy, et al., 2006) (Fig.1).

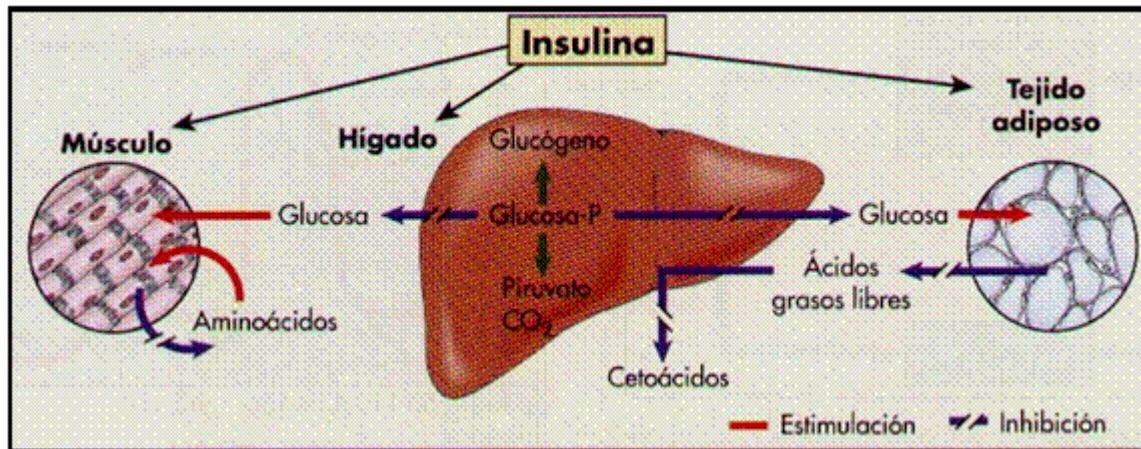


Fig. 1. Efecto de la insulina en músculo esquelético, tejido adiposo e hígado. (Tomado de Levy, et al., 2006).

La alteración de la sensibilidad a la insulina de los tejidos periféricos -resistencia a la insulina- y/o la alteración en la secreción de esta, debida a defectos en la función de las células β o una reducción en la masa celular, provocan una alta concentración de glucosa sanguínea, lo que se denomina como hiperglucemia.

1.1.3. Complicaciones de la diabetes

A corto plazo, la hiperglucemia causa síntomas de poliuria, polidipsia y polifagia (WHO, 2011); sin embargo, en una hiperglucemia crónica, las complicaciones pueden clasificarse por el nivel de afectación en:

- Microvasculares: Se relacionan con daño al endotelio y al músculo liso, manifestándose como nefropatía, retinopatía y neuropatía diabética;

- Macrovasculares: que incluyen un grupo de trastornos que se caracterizan por aterosclerosis y enfermedad isquémica del corazón en todas sus modalidades.

En gran medida estas complicaciones se originan por cambios químicos y funcionales de las proteínas, alteración en la expresión de genes y daño al endotelio (Díaz-Flores et al., 2004).

1.1.4. Diagnóstico de la diabetes

Debido a las complicaciones de la diabetes, es necesario un diagnóstico temprano, por lo que para obtenerlo deben realizarse pruebas clínicas para determinar los niveles de glucosa sanguínea como son:

- Prueba de Glucemia Plasmática Ocasional- En donde se obtiene la muestra de sangre del paciente en cualquier momento del día, independientemente del tiempo pasado desde la última ingesta de alimento;
- Prueba de Glucemia Plasmática en Ayunas- En donde se obtiene la muestra de sangre del paciente en un periodo sin ingesta de alimentos de al menos 8 horas;
- Prueba de Tolerancia a la Glucosa- En donde se obtiene la muestra de sangre del paciente después de dos horas de una ingesta de glucosa anhidrida (75 g) disuelta en agua (500ml) (Conget, 2002).

Los niveles de glucosa que permiten el diagnóstico de diabetes se indican en el cuadro 1; así mismo se muestran valores de glucosa que se consideran como situaciones de riesgo para desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares, que son: Glucosa alterada en ayunas y Tolerancia disminuida a la glucosa.

Cuadro 1. Valores de glucosa utilizados para el diagnóstico de diabetes (Conget, 2002).

Prueba	Situaciones de riesgo para desarrollar diabetes.	Diagnóstico de diabetes
Prueba de Glucemia Plasmática Ocasional		≥ 200mg/dl más síntomas (poliuria, polidipsia y pérdida de peso sin explicación)
Prueba de Glucemia Plasmática en Ayunas	Glucosa alterada en ayunas ≥ 110mg/dl < 126mg/dl	≥ 126 mg/dl
Prueba de Tolerancia a la Glucosa	Tolerancia disminuida a la glucosa ≥ 140mg/dl < 200mg/dl	≥ 200mg/dl

1.1.5. Clasificación de la diabetes

De acuerdo con su etiología, la diabetes puede clasificarse en:

Tipo 1. En la cual se indica una deficiente o nula producción de insulina por parte de las células β- pancreáticas debido a la destrucción de éstas. Se incluyen en esta

categoría tanto aquellos casos en donde la destrucción de las células β - pancreáticas es causada por procesos autoinmunes, como por aquellos procesos en donde no es conocida ni la etiología, ni la patogénesis;

Tipo 2. Se caracteriza por desórdenes en la acción de la insulina y en la secreción de ésta. Debido a que el 90% de la población con esta enfermedad presenta este tipo de diabetes, se abordará con más detalle en otro apartado;

Otros tipos específicos de diabetes mellitus. Son aquellos tipos cuya causa es poco común y que incluyen: defectos genéticos de la célula β , defectos genéticos en la acción de insulina, enfermedades asociadas a procesos que afectan el páncreas exocrino, endocrinopatías, fármacos o sustancias químicas, infecciones, formas infrecuentes de diabetes autoinmunes y a otros síndromes que a veces se asocian a la enfermedad;

Diabetes gestacional. Se entiende como toda aquella alteración del metabolismo de los carbohidratos que se diagnostica por primera vez durante el embarazo (WHO, 2001, WHO, 2006, Conget, 2002).

1.2. Diabetes tipo 2

En la diabetes tipo 2, los defectos en la sensibilidad y secreción de insulina suelen coexistir, causando anormalidades metabólicas como hiperglucemia, aunada a la alteración de la disponibilidad de glucosa por parte de los tejidos estimulada por insulina,

producción incontrolada de glucosa hepática, y alteración en el metabolismo de lípidos (dislipidemia), que incluye una homeostasis perturbada de ácidos grasos, triglicéridos y lipoproteínas (Muoio y Newgard, 2008, Conget, 2002).

Esta enfermedad es ampliamente asociada con la obesidad y se desarrolla cuando una sobrecarga nutricional se conjuga con la susceptibilidad genética del individuo causando resistencia a la insulina; sin embargo, tanto los estados de obesidad como de resistencia a la insulina pueden mantenerse por largos periodos de tiempo, debido a la compensación de las células β pancreáticas (hiperinsulinemia) que evita que se desencadene en diabetes. Sin embargo, la falla de las células β , que involucra una disminución de la masa celular y deterioro de su función, es el factor de transición para el desarrollo de diabetes tipo 2 (Muoio y Newgard, 2008).

La obesidad no es la única causante de la resistencia a la insulina, esta puede desarrollarse a consecuencia de factores inflamatorios y hormonales, estrés del retículo endoplásmico, y por la acumulación de los subproductos tóxicos por la sobrecarga nutricional en tejidos sensibles a la insulina como adipocitos, hepatocitos, músculo esquelético y células β pancreáticas; además, la hiperinsulinemia compensatoria exacerba la resistencia a la insulina y contribuye directamente a la falla de las células β pancreáticas (Serrano-Ríos y Gutierrez-Fuentes, 2010).

Debido a que la diabetes tipo 2 tiene una carga genética, se pueden diferenciar aquellos determinantes genéticos esenciales que son específicos de diabetes pero no suficientes por si solos para generar la enfermedad (genes que determinan defectos en la

sensibilidad de la insulina, y/o secreción de ésta), de los determinantes genéticos relacionados con la diabetes no esenciales, que no son específicos de diabetes pero están relacionados con ella (obesidad, la distribución de adiposidad, y la longevidad) (Conget, 2002).

1.3. Diabetes en México

En México se estima que 7.3 millones de mexicanos padecen esta enfermedad, de los cuales solamente 3.7 millones de ellos conocen su diagnóstico, a raíz de esto, la diabetes se ha convertido en la primera causa de muerte del país (Aguilar- Salinas y Rojas, 2012).

Las personas con diabetes representan un alto costo para el sistema de salud, para el 2000, los costos totales fueron 15 mil 118 millones de dólares. Estos gastos se pueden dividir en costos directos, que implica medicamentos, hospitalización, consultas y complicaciones derivadas de la enfermedad (1974 millones de dólares) y costos indirectos que tienen que ver con aspectos en la productividad como son jubilaciones e incapacidades prematuras (13 mil 144 millones de dólares) (Aguilar- Salinas y Rojas, 2012; Barceló, et al., 2003).

1.4. Hipoglucemiantes orales

Debido al gran impacto económico derivado de la enfermedad y de sus complicaciones, es necesario un tratamiento específico para el paciente, el cual debe adecuarse con base en el tiempo de evolución de la enfermedad, el peso y el nivel de hiperglucemia.

Dentro de los tratamientos se encuentran la dieta y el ejercicio, pero también algunos hipoglucemiantes orales como:

- Sulfonilureas (Tolbutamida, clorpropamida, glibenclamida, glipicida, glicacida, glimepirida): Estos hipoglucemiantes estimulan la secreción de insulina al modular el canal de K_{ATP} al unirse al receptor de las sulfonilureas (SUR) presente en la superficie de las células β pancreáticas. Puesto que las sulfonilureas son de los hipoglucemiantes orales más utilizados (Zhang, et al., 2004), en este estudio se utilizó la glibenclamida como fármaco control, por lo que se abordarán de manera somera sus características y mecanismo de acción en el siguiente apartado;
- Meglitinidas (Nateglinida y repaglinida): Estimulan la secreción de insulina, al igual que las sulfonilureas se unen al receptor SUR, sin embargo esta unión es de unos cuantos segundos;

- Biguanida (Metformina): Inhibe la gluconeogénesis, incrementa sensibilidad a la insulina, y estimula la síntesis de glucógeno, esto al incrementar la actividad de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK);
- Thiazolidinedionas Incrementan la sensibilidad a la glucosa y reducen la resistencia a la insulina, a través de la activación de los receptores nucleares hormonales gama (PPAR γ) involucrados en la regulación de genes asociados al metabolismo de glucosa y lípidos;
- Agonistas de GLP-1. Estimulan la biosíntesis y secreción de insulina al activar el receptor GLP-1;
- Inhibidores de la dipeptilpeptidasa 4 (DPP-4). Inhiben la inactivación de la GLP-1.
- Inhibidores de las α -glucosidasas. Como su nombre lo indica, inhiben la absorción intestinal de glucosa al evitar que los carbohidratos se unan a la región activa de las α -glucosidasas, impidiendo que se digieran (Brunton, et al., 2010).

1.4.1. Sulfonilureas

Las sulfonilureas consisten en un grupo urea unido vía sulfuro a un anillo de benceno, sus variaciones consisten en los sustituyentes en el nitrógeno del grupo urea y en la posición para del anillo de benceno (Fig. 2). Las sulfonilureas se dividen en dos grupos,

dentro de las de primera generación se encuentran la tolbutamida, clorpropamida y tolazamida, mientras que la glibenclamida, glipicida y glicacida pertenecen a la segunda generación (Brunton, et al., 2010).

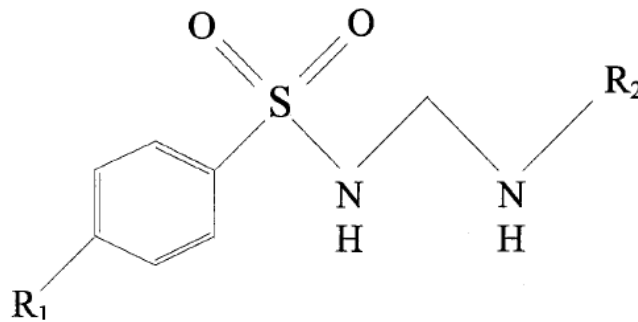


Fig. 2. Estructura química esencial de las sulfonilureas. R1 son los sustituyentes de la posición para del anillo bencénico, mientras que R2 representa los sustituyentes en el nitrógeno del grupo urea.

Estos compuestos modulan directamente la secreción de insulina al unirse a la subunidad SUR1 (receptor de sulfonilureas) de los canales de K^+ dependientes de ATP que se encuentran en las células β pancreáticas; al unirse a esta subunidad se provoca el cierre de los canales de K^+ y por lo tanto la inhibición del flujo de estos iones causando la despolarización de la membrana celular. Esta despolarización ocasiona la apertura de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje con el consecuente incremento de Ca^{2+} citosólico, lo que provoca que los microtúbulos se contraigan y así permitan la liberación de insulina (Fig. 3) (Cheng y Fantus, 2005; Doyle y Egan, 2003).

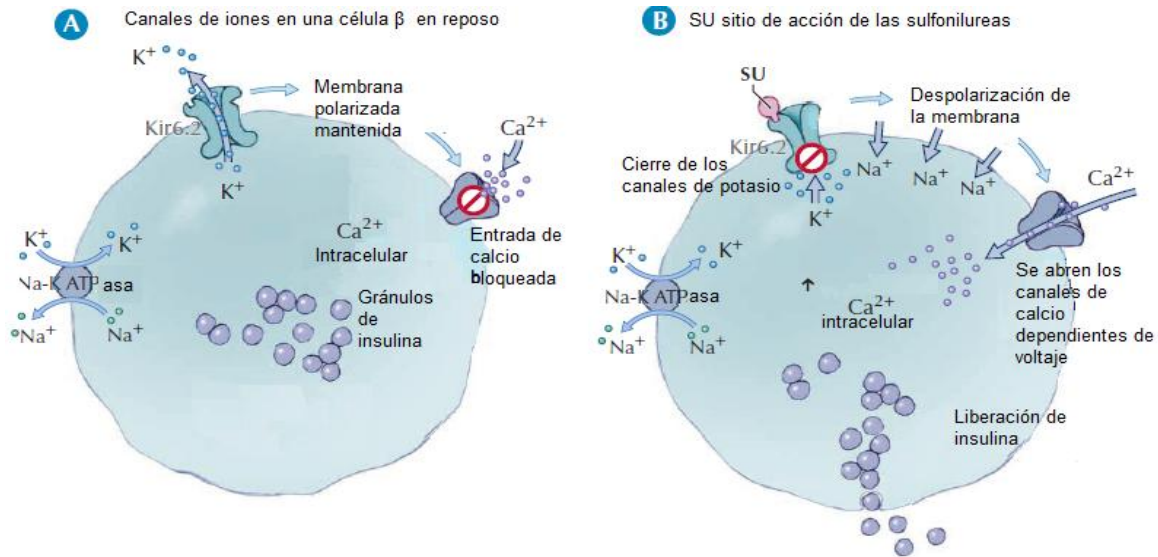


Fig. 3. Sulfonilureas mimetizan la acción de la glucosa al inhibir los canales de K^+ dependientes de ATP y estimular la secreción de insulina (Tomado de Cheng y Fantus, 2005).

Como se ha mencionado, existen diferentes formas de tratar la diabetes, la medicina tradicional es una de ellas. En la medicina tradicional se utilizan plantas, minerales y animales que se encuentran en los ecosistemas propios de la región, donde esta utilización está aunada a sus tradiciones e ideología (Barba De Piña, 2002). Debido a ello, es necesario comprender las acciones terapéuticas de los productos naturales biológicamente activos de uso tradicional, trabajo a cargo de la etnofarmacología (Andrade-Cetto y Heinrich, 2011).

En México, la medicina tradicional es en su mayoría herbolaria y su utilización ha sido transmitida por medio de usos y costumbres. Para el tratamiento de la diabetes se ha observado que una importante población que padece esta enfermedad llega a utilizar casi siempre plantas con o sin prescripción médica (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), por

lo que se abordará lo relativo a las plantas hipoglucemiantes utilizadas en el tratamiento de la diabetes en este contexto.

1.5. Plantas medicinales hipoglucemiantes en México

Existen recopilaciones sobre el uso de plantas utilizadas para diferentes tratamientos en trabajos escritos de fray Bernardino de Sahagún, Martín de la Cruz, Juan Badiano, Francisco Bravo, Hernando Ruiz de Alarcón y Francisco Hernández. El inventario de especies utilizadas tradicionalmente en el tratamiento de la diabetes inició a principios del siglo XX por el Instituto Médico Nacional, entre éstas se encuentran el copalchi (*Coutarea latiflora*), el guarumbo (*Cecropia obtusifolia*) y el matarique (*Psacalium sp.*) (Aguilar y Xolalpa 2002).

En 2002 se realizó un estudio en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social, con el fin de conocer el número aproximado de plantas que debido a trabajos etnobotánicos podrían ser consideradas como hipoglucemiantes, resultando que de 14,000 ejemplares que se encuentran registrados, 179 especies de 68 familias botánicas están reconocidas para el tratamiento de la diabetes, en donde las familia Asteraceae, Cactaceae y Fabaceae son las más representadas; sin embargo, para 2005 esta cifra se estimaba en cerca de 500 especies de plantas utilizadas en México en el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Aguilar y Xolalpa 2002), lo que a medida que surjan más investigaciones este número podría ser mucho mayor.

Debido a que la etnofarmacología involucra estudios multidisciplinarios, además de información sobre el uso de las plantas en medicina tradicional, los métodos fitoquímicos han sido adoptados para la identificación, caracterización y determinación de las estructuras químicas de los productos naturales (Phillipson, 2007); por esta razón se abordará de manera breve lo relativo a la fitoquímica con énfasis al método de Cromatografía en Capa Fina (CCF), que se utilizó en este trabajo.

1.6. Fitoquímica

El estudio de la química de las plantas engloba una gran variedad de sustancias orgánicas que son elaboradas y acumuladas por las plantas; se enfoca al estudio de la estructura química de estas, su biosíntesis, distribución y función biológica (Harborne, 1998).

La gran variedad de compuestos químicos de las plantas puede clasificarse en metabolitos de carácter primario, que son necesarios para las funciones básicas de la vida (Bourgaud, et al., 2001), y metabolitos secundarios, que actúan como defensa contra herbívoros y patógenos, como protección contra el estrés producido por cambios abióticos, o como atrayente para polinizadores o simbioses (Briskin, 2000).

Son los metabolitos secundarios a quienes se les atribuye en la gran mayoría de los casos el efecto benéfico que producen las plantas medicinales y son usualmente clasificados de acuerdo a su ruta biosintética, considerándose tres familias principales: polifenoles, terpenos-esteroides, y alcaloides (Bourgaud, et al., 2001, Briskin, 2000); no

obstante, para plantas utilizadas en el tratamiento de la diabetes, se reportan además otros compuestos con actividad hipoglucemiante como son: glicósidos, polisacáridos y proteínas (Lamba, et al., 2000).

La separación, identificación y estructura de los compuestos presentes en las plantas de uso medicinal ha sido facilitado por el continuo desarrollo de métodos de análisis como la cromatografía y la espectroscopía (Phillipson, 2007).

1.6.1. Cromatografía en Capa Fina (CCF)

La cromatografía es un método de separación a través de un sistema bifásico, el cual aprovecha la diferencia en la conducta de separación de los componentes de una mezcla entre una fase estacionaria, donde se retendrán los compuestos a separar, y una fase móvil, que desplazarán diferencialmente los compuestos a través de la fase estacionaria (Swami, et al., 2008).

La Cromatografía en Capa Fina emplea una fase estacionaria adsorbente (capa fina retenida sobre una superficie plana), que puede ser de diferentes materiales -sílica gel, celulosa, alúmina, etc., y una fase móvil líquida, que puede consistir en un solvente o en una mezcla de estos. La fase móvil se mueve a través de la fase estacionaria por medio de fuerzas de capilaridad; la separación de sustancias por su parte, es el resultado de dos fuerzas opuestas: la fuerza motriz de la fase móvil y la resistencia del adsorbente (Sharapin, et al., 2000; Fried y Sherma, 1999).

El tipo de adsorbente determinará el tipo de resistencia, que será por adsorción cuando haya interacciones de polaridad, partición cuando sea de solubilidad, filtración molecular cuando dependa del tamaño de las partículas y de intercambio iónico cuando sea por ionización (Sharapin, et al., 2000; Fried y Sherma, 1999)

La fitoquímica es fundamental en el estudio de las plantas medicinales de uso tradicional al permitir la identificación de los compuestos que podrían ser benéficos, en este caso, para el tratamiento de la diabetes; sin embargo, son necesarios otro tipo de estudios ya sean de tipo “in vitro” o “in vivo” que permitan investigar su potencial efecto hipoglucemiante y en tal caso el estudio subsecuente del mecanismo de acción (Fröde y Madeiros, 2008); para ello, existe una gran variedad de modelos animales que permiten simular algunos fenómenos que se observan en pacientes con diabetes, los cuales además, contribuyen al conocimiento de los factores fisiológicos, bioquímicos y ambientales que predisponen a esta enfermedad (Amaya, et al., 2007).

1.7. Modelos experimentales utilizados en el estudio de diabetes tipo 2

Existen una gran diversidad de modelos experimentales utilizados para el estudio de la diabetes tipo 2 debido a que esta enfermedad involucra procesos de resistencia a la insulina, así como un defecto en la secreción de ésta por parte de las células β pancreáticas. Se utilizan modelos espontáneos o inducidos; entre estos últimos se encuentran los inducidos con químicos, por dieta o por cirugía, así como los derivados de

manipulación genética en el caso de los modelos transgénicos y knock-out (Srinivasan y Ramarao, 2007).

En la mayor parte de los estudios publicados en el campo de la etnofarmacología entre 1996 y 2006 fueron empleados los modelos de inducción química, siendo la estreptozotocina (STZ) utilizada en el 69% de los estudios realizados, seguida del aloxan que fue utilizada en el 31% de los casos (Fröde y Medeiros, 2008). Estos modelos destruyen de manera selectiva los islotes pancreáticos, siendo su uso simple y práctico.

Cada modelo presenta sus ventajas y desventajas, no habiendo un modelo que mimetice todas las características de la diabetes tipo 2 que afecta a los humanos.

1.7.1. Modelo NA-STZ

El modelo consiste en administrar intraperitonealmente Nicotinamida (NA) a dosis de 230mg/kg quince minutos antes que la Estreptozotocina (65mg/kg) por vía intravenosa (Fig. 4). Este modelo comparte ciertas características con la diabetes tipo 2, como son: hiperglucemia estable moderada, intolerancia a la glucosa, secreción de insulina estimulada por glucosa, así como respuesta a la tolbutamida (Masiello, et al., 1998).

La estreptozotocina (2-deoxi-2-(3(metil-3-nitrosoureido)-D-glucopiranos), sintetizada por *Streptomyces achromogenes*, es transportada al interior de las células β pancreáticas vía el transportador de glucosa GLUT2 (Szkudelski, 2012).

Se piensa que la propiedad de alquilación del DNA es la mayor razón de su toxicidad, ya que al dañar al DNA, se activa la poli(ADP-ribosa)polimerasa-1 (PARP-1) que repara el daño, la cual cataliza la síntesis de poli(ADP-ribosa) a partir del NAD⁺ celular; la subsecuentemente disminución del NAD⁺ causa el agotamiento del ATP, lo que resulta en necrosis de las células β pancreáticas (Lenzen, 2008; Szkudelski, 2012). Inhibidores de la PARP-1, como la nicotinamida, protegen a las células β pancreáticas de la destrucción tóxica de la STZ (Lenzen, 2008). Además, ya que la STZ es un donador de óxido nítrico, y un generador de especies reactivas de oxígeno, puede contribuir con ambas acciones de manera sinérgica a la fragmentación de DNA y a otros cambios perjudiciales (Szkudelski, 2001).

La nicotinamida (piridina-3-carboxamida), que proviene de la vitamina B3-niacina-, además de ser inhibidor de PARP-1, posee una estructura molecular que le permite actuar como antioxidante al secuestrar radicales libres (Amaya, et al., 2007).

Las modificaciones al modelo han permitido comprobar que el efecto de la inducción con STZ y NA varía dependiendo de las dosis de estos compuestos, la edad de los animales en experimentación y el tiempo en que se administra NA en relación a la administración de STZ, así como a la ruta de administración de la STZ y el estado nutricional de las ratas (Szkudelski, 2012).

Amaya y colaboradores en 2007 probaron diferentes dosis de NA (100mg/kg, 125mg/kg y 350 mg/ kg) y dosis de STZ de 65mg/kg, en donde observaron junto a estudios histopatológicos, que las dosis más altas de NA protegen al páncreas de su destrucción

total, y que la STZ disminuye el número de células de los islotes pancreáticos permitiendo la infiltración de grasa, por lo cual se determinó que la NA tiene un efecto protector dosis dependiente (Amaya, et al., 2007).

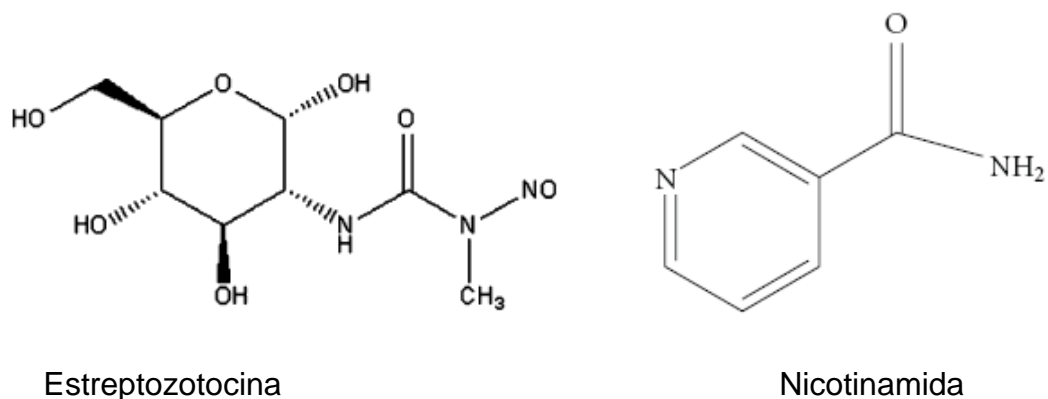


Fig. 4. Estructuras químicas de la estreptozotocina (STZ) y Nicotinamida (NA)

Por sus características similares a la diabetes tipo 2, este modelo se eligió para probar el efecto hipoglucemiante de *B. plumieri*. A continuación se precisará con más detalle sobre su morfología, ubicación, usos etnobotánicos y estudios fitoquímicos.

1.8. *Bromelia plumieri* (E. Morren) L.B. Sm.

Esta planta también es conocida como piñuela, aguama, cazuela (SIIT*mx, 2009), timbiriche (Hornung y Leoni, 2011), Chak ch'am (Flores, et al., 2001) chichipo, chiyol (Espejo-Serna, et al., 2005), cocuistle o jocuistle (Bioversity International, 2012).

Es tropical, y se distribuye entre los 400 a 1500 m sobre el nivel del mar, desde México a Brasil (Parada y Duque, 1998) (Fig. 5). Su clasificación botánica puede verse en el cuadro 2.

Son hierbas terrestres con hojas alargadas, gruesas, y con dientes afilados a lo largo de los márgenes; con inflorescencia sésil, esencialmente a nivel del suelo (Flora of Kaxil Kiuic, 2005). Florece en los meses de mayo a octubre (Espejo-Serna, et al., 2005). Sus frutos miden de 5 a 10 cm de largo y 1 o 2 cm de diámetro, tienen una epidermis café, cubierta por una delgada capa pubescente ocre (Parada y Duque, 1998) (Fig. 6).

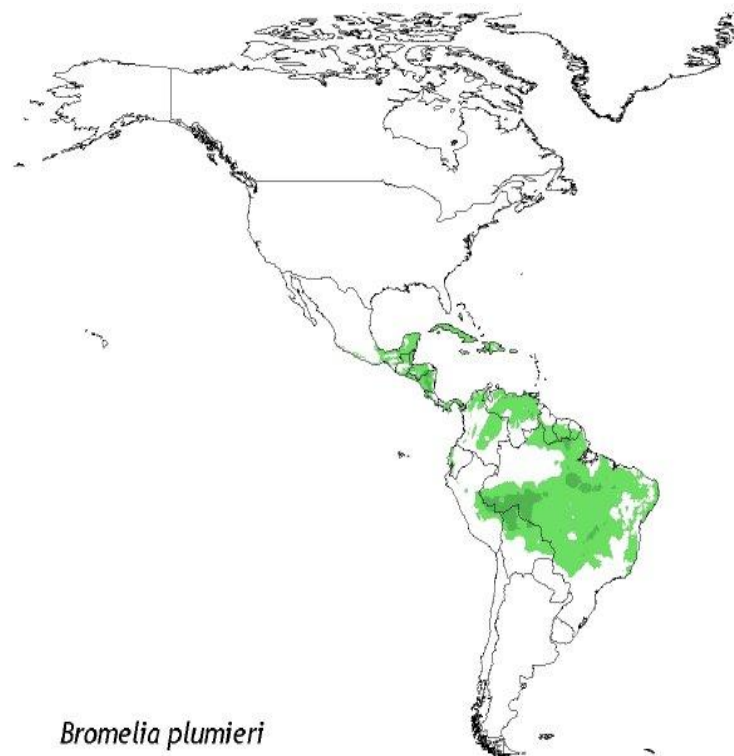


Fig. 5. Distribución de *B. plumieri* (*E. Morren*) *L.B. Sm.* (Bioversity International, 2012)

Cuadro 2. Clasificación botánica de *Bromelia plumieri* (Modificado de SIIT*mx, 2009)

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Subclase	<i>Zingiberidae</i>
Orden	<i>Bromeliales</i>
Familia	<i>Bromeliaceae</i>
Género	<i>Bromelia</i>
Especie	<i>Bromelia plumieri</i> (E. Morren) L.B. Sm.
Sinónimos	<i>Bromelia karatas</i> L., <i>Karatas plumieri</i> E. Morren



Fig. 6. Fotos de *B. plumieri* y sus frutos tomadas en San Simón, municipio de Tepehuacán de Guerrero, Hidalgo, por Christian Alan Cabello Hernández y el autor.

Dentro de los usos para *B. plumieri* se encuentran:

- Uso comestible, en el cual se utilizan tanto las hojas como los frutos. Las hojas se utilizan para la preparación de bebidas frescas en la región de la Huasteca, Hidalgo (Hornung-Leoni, 2011a). La fruta por su parte, se come directamente o es utilizada para preparar salsa para tacos, esto último en el estado de Jalisco; en Perú se usa el jugo de la fruta para preparar bebidas refrescantes (Hornung-Leoni, 2011b); también la fruta se utiliza para hacer mermeladas (Parada y Duque, 1998).
- Cerca viva, empleadas como barreras para evitar la erosión y como cercos para delimitar las propiedades.
- Usos medicinales (Hornung y Leoni, 2011a; Morton, 1981 en Flora of Kaxil Kiuic, 2005) entre los que se encuentran: la utilización del jugo de los frutos para el tratamiento del escorbuto, las frutas cocidas con azúcar como diurético, las semillas machacadas hervidas con azúcar para expulsar parásitos internos (Flora of Kaxil Kiuic, 2005), las hojas se emplean para preparar un té contra la inflamación (Villavicencio y Pérez, 2005 en Hornung y Leoni, 2011a).

En específico para el tratamiento de la diabetes, su utilización está reportado por Díaz (1976) en donde solo se indica su uso como jugo pero no se precisa la parte de la planta

utilizada; y en la Flora of Kaxil Kiuic, (2005) donde se precisa que se utiliza el jugo de los frutos para tal fin.

Dentro de los estudios químicos de la planta, se han encontrado en la pulpa de la fruta algunos compuestos como 1-O- β -D-glucopiranosil antranilato, y 3,4-dimetoxifenil β -D-glucopiranosil, así como de 38 compuestos volátiles glicosilados (Parada y Duque, 1998). En otros estudios para detectar flavonas y flavonoles en las hojas de la familia Bromeliaceae, se reportó que estos compuestos no estaban presentes en esta especie (Williams, 1978).

Su actividad antioxidante fue evaluada comparando su actividad con plantas expuestas a la luz y en sombra, en temporada de lluvia y de sequía, sugiriéndose que la actividad es debida a metabolitos polares e hidrofílicos (González-Salvatierra, et al. 2010).

Por otra parte, en un estudio realizado por Flores y colaboradores en 2001 para conocer las plantas de la flora yucateca que son tóxicas, se encontró que al ingerir los frutos de *B. plumieri* se produce escozor e inflamación de los labios (Flores, et al., 2001).

A pesar de la variedad en su uso comestible y medicinal, no se han realizado estudios farmacológicos que permitan legitimar la eficacia y la seguridad de esta planta.

II. Justificación

En estudios de campo llevados a cabo por el Laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, informantes de Tlanchinol, Hidalgo, hacen referencia a la utilización de las hojas de *Bromelia plumieri* en forma de té para el tratamiento de la diabetes; debido a que no existen estudios farmacológicos sobre esta planta, se decidió probar el efecto hipoglucemiante agudo de las hojas en un modelo de diabetes inducida (NA- STZ).

III. Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar el efecto hipoglucemiante agudo de *Bromelia plumieri* administrado por vía oral a ratas tratadas con NA-STZ.

Objetivos particulares:

- Evaluar el efecto hipoglucemiante agudo del extracto acuoso de hojas de *Bromelia plumieri* administrado por vía oral a ratas tratadas con NA-STZ.
- Evaluar el efecto hipoglucemiante agudo del extracto etanol-agua de hojas de *Bromelia plumieri* administrado por vía oral en ratas tratadas con NA-STZ.

- Evaluar si el tiempo de inicio del efecto guarda relación con la dosis administrada.
- Detectar por medio de cromatografía en capa fina la presencia de flavonoides, terpenos y alcaloides del extracto acuoso y etanol-agua, así como en extractos adicionales.

IV. Hipótesis

Ho1-La administración aguda por vía oral del extracto acuoso de *Bromelia plumieri* no tiene efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con NA-STZ.

Ha1- La administración aguda por vía oral del extracto acuoso de *Bromelia plumieri* tiene efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con NA-STZ.

Ho2-La administración aguda por vía oral del extracto etanol-agua de *Bromelia plumieri* no tiene efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con NA-STZ.

Ha2- La administración aguda por vía oral del extracto etanol-agua de *Bromelia plumieri* tiene efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con NA-STZ.

V. Materiales y métodos

5.1. Colecta y procesamiento de *Bromelia plumieri*

Se realizaron dos colectas por el Dr. Adolfo Andrade Cetto y el equipo de trabajo del Laboratorio de Etnofarmacología en la localidad de San Simón, Mpio. de Tepehuacán de Guerrero, Hidalgo, ya que el principal informante de Tlanchinol indicó que la colecta de la planta se realizaba en esa localidad. La primera colecta de *B. plumieri* se realizó a finales del mes de Agosto de 2010 y la segunda a finales de Marzo de 2011.

El material fue identificado por el M. en C. Ramiro Cruz Durán del Departamento de Biología Comparada de la Facultad de Ciencias. El ejemplar se encuentra depositado en el Herbario de Plantas Medicinales del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) con el número de registro IMSSM 15814.

Las hojas de *B. plumieri* se fragmentaron y secaron en la cámara de secado del Laboratorio de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias, UNAM, a una temperatura de 40°C. Después se molieron en un molino MF10basic de la marca IKA.

5.2. Preparación de extractos de *Bromelia plumieri*

5.2.1. Extractos para pruebas farmacológicas

- Extracto acuoso

Se preparó con las hojas molidas de *B. plumieri* pesando y agregando 27.344g en 500 ml de agua destilada recién hervida, la cual se mantuvo en agitación por tres horas. La mezcla se filtró con papel filtro. La fracción líquida se congeló a -40°C en un ultracongelador marca Revco, y después se liofilizó (Liofilizadora LABCONCO).

- Extracto etanol- agua

Se preparó con las hojas molidas de la *B. plumieri* poniendo 20 g de esta en 800 ml de etanol- agua destilada en proporción 1:1; se mantuvo en agitación por tres horas a 40°C. La mezcla se filtró con papel filtro, con el sobrante se repitió el procedimiento pero en 400 ml de etanol- agua en la misma proporción. El etanol de ambas extracciones se eliminó mediante evaporación a presión reducida en un rotavapor (Büchi modelo R-205). El exceso de disolvente se congeló a -40°C en un ultracongelador (Revco), y después se liofilizó.

5.2.2. Extractos adicionales para pruebas fitoquímicas.

Para estas pruebas se utilizaron los extractos acuoso y etanol-agua utilizados para las pruebas farmacológicas, así mismo se decidió preparar extractos de tipo hexánico y butanólico de las hojas de *B.plumieri* para detectar la presencia de flavonoides, terpenos y alcaloides que pudieran no haberse observado en los extractos anteriores. De esta

manera se obtendría más información sobre los metabolitos secundarios presentes en las hojas de esta planta que podrían o no, estar relacionados con el efecto observado.

Así mismo se preparó un liofilizado del jugo de los frutos de esta planta para someterlo a pruebas fitoquímicas, que podría dar pie a futuras investigaciones, ya que en la literatura se encuentra reportado el uso de este jugo para el tratamiento de la diabetes (Flora Kaxil Kiuic, 2005).

- Extracto de hexano y butanol

Los extractos se prepararon con hojas molidas de *B. plumieri* colocando 59.46 g en el cartucho de extracción para Soxhlet. Primero se hizo la extracción con hexano, el cual se eliminó mediante evaporación a presión reducida. Después se hizo una extracción con metanol. Al terminar la extracción se limpiaron las clorofilas con tetracloruro de carbono y agua, quedando la fracción de metanol-agua. El metanol se eliminó en rotavapor; a la fracción acuosa se le agregó butanol, en seguida con un embudo de separación se quitó el agua y la fracción butanólica se eliminó en el rotavapor (Fig. 7) (Andrade-Cetto, 1999).

- Liofilizado de jugo de frutos de *Bromelia plumieri*

Se preparó un jugo de frutos de *B. plumieri* por medio de una prensa marca HAFICO serie 518620, obteniéndose 141 ml de jugo de 279 g de frutos. Este se congeló a -40°C en un ultracongelador y después se liofilizó.

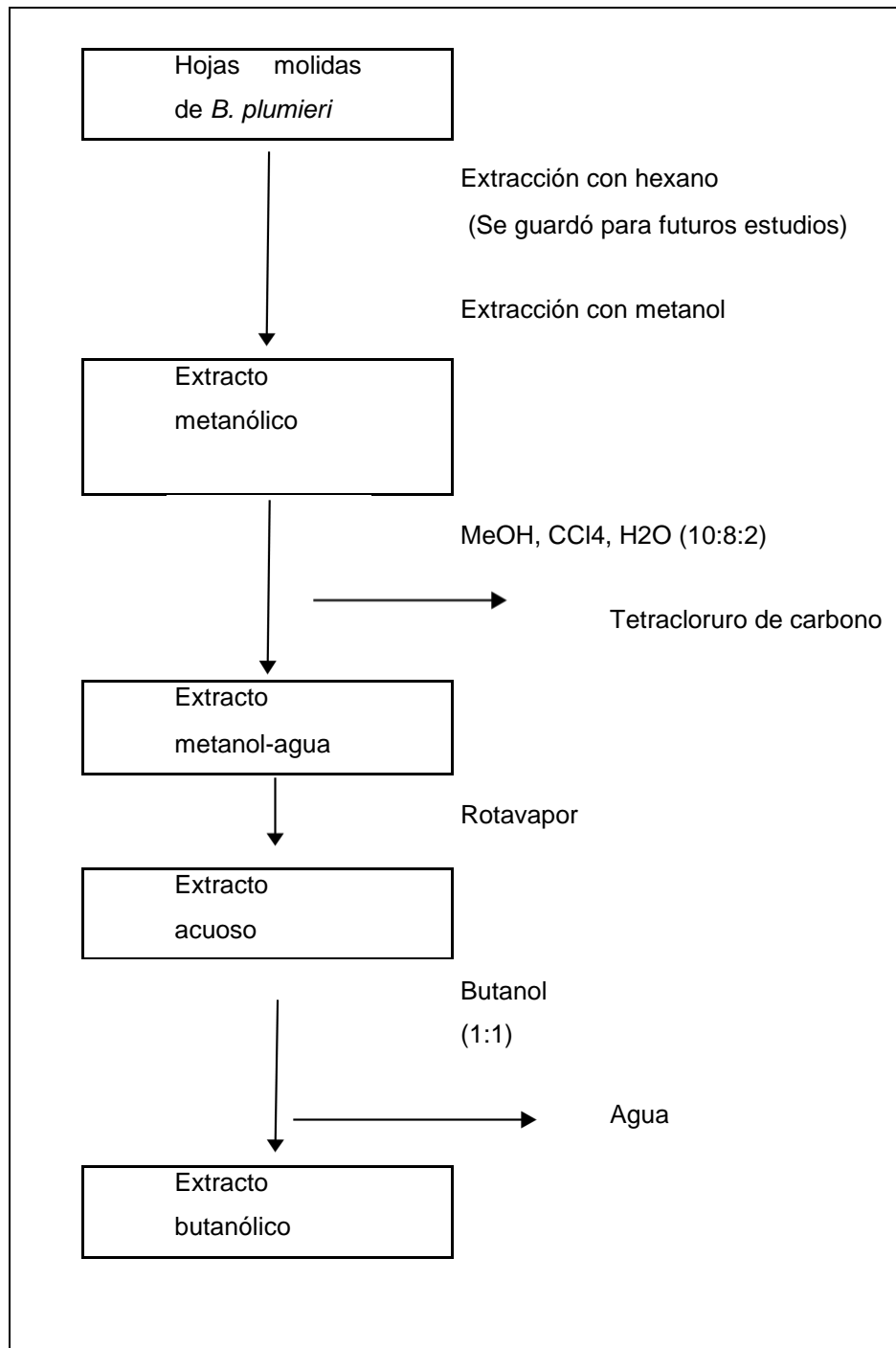


Fig. 7. Protocolo de obtención de extracto hexánico y butanólico de las hojas de *B. plumieri*.

5.3. Cálculo de DER (Drug extract ratio)

Este cálculo es un criterio importante para la caracterización de una preparación herbal. Hace referencia a la relación de masa del material herbal inicial (Droga herbal g) con la masa del extracto resultante (Preparación herbal). La cantidad y composición del extracto, así como el cálculo de DER son principalmente influenciados por parámetros como: solvente de extracción, procedimiento de manufactura y aparato de manufactura (Vlietinck, et al., 2009).

$$\text{DER} = \frac{\text{Droga herbal (g)}}{\text{Preparación herbal (g)}} = x: 1$$

5.4. Animales de experimentación

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar de dos meses de edad de entre 200 y 250 g de peso corporal. Los animales se mantuvieron con libre acceso a agua y alimento comercial para roedores (5001 Lab. Animals) en el Bioterio de la Facultad de Ciencias en un fotoperiodo luz -oscuridad de 12:12, a una temperatura de 25°C.

5.5. Inducción de diabetes experimental NA-STZ

A las ratas se les inyectó por vía intraperitoneal: nicotinamida (NA) a dosis de 230 mg/kg disuelta en 2ml de solución fisiológica, y quince minutos después se inyectó estreptozotocina (STZ) a dosis de 65 mg/kg disuelta en 1ml de buffer de citratos. Dos

semanas después de la inducción se eligieron las ratas con valores de glucosa en ayuno diferentemente significativos con respecto a sus valores antes de la inyección.

5.6. Medición de glucosa

Se realizó un corte en la punta de la cola de las ratas para obtener una muestra de sangre que se depositó en la tira reactiva para glucómetro de la marca Accutrend GC; las pruebas se realizaron por duplicado.

5.7. Dosis de *Bromelia plumieri*

Las dosis se calcularon de acuerdo a los extractos obtenidos de 20 g de las hojas molidas de la planta (Cuadro 4), tomando como referencia que una persona de aproximadamente 70 kg tomaría esa cantidad de extracto en un día. Para el extracto etanol-agua se calculó para la dosis menor un valor de 0.03 g/kg que se disolvió en 6ml de solución fisiológica; para calcular la dosis mayor se elevó la dosis menor 10 veces, obteniéndose 0.3 g/kg que se disolvieron en la misma cantidad de solución fisiológica. Para el extracto acuoso, las dosis se calcularon con el mismo procedimiento, obteniéndose para la dosis menor el cálculo de 0.035 g/kg y para dosis mayor 0.35 g/kg.

5.8. Dosis de hipoglucemiante oral

La dosis de glibenclamida fue de 5 mg/kg en 6ml de solución fisiológica (Torres-Piedra, et al., 2010).

5.9. Diseño experimental

Se formaron 7 grupos de 11 animales cada uno (3 grupos controles y 4 experimentales) (Cuadro 3). Los tratamientos se administraron oralmente, en una dosis única, por medio de una cánula gastroesofágica. La glibenclamida y los extractos se disolvieron en solución fisiológica.

Antes de la administración se cuantificó la glucosa sanguínea, lo que se consideró como el tiempo cero (T0), después se tomaron tres mediciones más a intervalos de una hora: 60, 120 y 180 minutos después de la administración del extracto, fármaco o solución fisiológica. Todas las mediciones se iniciaron entre las 10:00 am y 10:30 am.

Cuadro 3. Diseño experimental

Grupos	Tratamientos
A- Control no diabético.	6 ml/kg de solución fisiológica
B- Control diabético.	6 ml/kg de solución fisiológica
C-Control diabético+ hipoglucemiante	5 mg/kg de glibenclamida
D	Extracto acuoso de <i>B. plumieri</i> dosis mayor 0.35 g/kg
E	Extracto acuoso de <i>B. plumieri</i> dosis menor 0.035 g/kg)
F	Extracto etanol-agua de <i>B. plumieri</i> dosis mayor 0.3 g/kg
G	Extracto etanol-agua de <i>B. plumieri</i> dosis menor 0.03 g/kg

5.10. Identificación preliminar de metabolitos secundarios por Cromatografía en Capa Fina (CCF)

De los extractos de hojas de *B. plumieri* (acuoso, etanol-agua, hexano, butanol) y del jugo de frutos liofilizados, se realizaron placas de cromatografía en capa fina para detectar la presencia de flavonoides, terpenos y alcaloides.

Las muestras se diluyeron en 0.1 ml de metanol, las de extracto hexánico en 0.1 ml de hexano. Para todas las pruebas se utilizaron placas TLC silica gel 60 F254 de 5 cm de largo x 5 cm de ancho, a excepción de las de alcaloides en donde se usaron placas de 20 cm de largo x 5 cm de ancho. Las pruebas se corrieron en cubetas de vidrio de distintos tamaños. El corrimiento de las placas se realizaron en el Laboratorio de Etnofarmacología en conjunto con el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias, UNAM,

5.10.1. Detección de flavonoides.

De acuerdo al método de Wagner y Bladt (2001), para detectar flavonoides glicosilados, se prepararon 10 ml en donde se utilizó la siguiente fase móvil: Acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial – agua (6:1:1:2), usando rutina como estándar. Para detectar la presencia de flavonoides agliconas, se prepararon 5 ml de la siguiente fase móvil: Cloroformo- acetona - ácido fórmico (3.5: 1: 0.5), utilizando quercitina como estándar.

Las placas para detectar flavonoides glicosilados, como flavonoides agliconas, se asperjaron con revelador Natural Product. La preparación del revelador puede verse detallado en el ANEXO 1.

5.10.2. Detección de terpenos.

Para detectar terpenos se prepararon 20 ml de la siguiente fase móvil: Hexano - acetato de etilo (14:6). La placa se asperjó con revelador Vainillina (ANEXO 1).

5.10.3 Detección de alcaloides.

Para detectar la presencia de alcaloides se prepararon 100 ml con la siguiente fase móvil: Diclorometano – metanol – hidróxido de amonio al 25% (85:14:1). Las placas se asperjaron con revelador Drangendorff. (Anexo 1)

5.11. Estadística

Los datos fueron analizados mediante ANOVA de un factor:

Para varias muestras relacionadas con un contraste posterior de Bonferroni para determinar la diferencia con respecto al tiempo de cada grupo con su propio tiempo cero.

Para muestras independientes con prueba post hoc Fisher para determinar la diferencia entre los tratamientos con respecto al control diabético. Las pruebas se realizaron en IBM SPSS Statistics 20, tomando como resultados significativos aquellos con una $p \leq 0.05$.

VI. Resultados

Cálculo de DER

Para cada preparación de *B. plumieri* se calculó el rendimiento (DER), los resultados se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Rendimiento (DER)

Preparaciones de <i>Bromelia plumieri</i>	Droga herbal (g)	Preparación herbal (g)	Rendimiento (DER)
Etanol-Agua	20	2.238	9:1
Acuoso	27.344	3.363	8:1
Butanólico	59.46	0.361	164:1
Hexánico	59.46	0.559	106:1
Jugo de frutos liofilizado	279	83.5	4:1

Para los extractos acuoso y etanol-agua, los rendimientos fueron muy parecidos, siendo que solo se necesitaron 9 y 8 partes respectivamente de la planta molida para obtener una parte de la preparación herbal. Para los extractos hexánico y butanólico se obtuvo un bajo rendimiento puesto que se necesitaron más de 100 partes de la planta molida para obtener una parte de la preparación herbal.

Para el jugo de frutos liofilizado solo se necesitaron 4 partes de la planta para obtener una de la preparación herbal.

Pruebas farmacológicas

Los niveles de glucosa sanguínea antes y después de los tratamientos con extractos de *B. plumieri* se encuentran en el cuadro 5, se indican los valores que son estadísticamente significativos contra el grupo diabético y contra el tiempo cero de su propio grupo a una $p \leq 0.05$.

Cuadro 5. Efecto hipoglucemiante de *B.plumieri* en ratas tratadas con NA-STZ

Grupos	Glucosa sanguínea (mg/ dl) después del tratamiento			
	T0	T60	120	180
A. Control no diabético.	115 ± 3 a	120 ± 4 a	111 ± 4 a	107 ± 3 a
B. Control diabético.	168 ± 4	171 ± 5	173 ± 3	162 ± 4
C. Control diabético + glibenclamida	167 ± 4	145 ± 5 ^{1a}	119 ± 4 ^{1a}	110 ± 3 ^{1a}
D. Diabético + Extracto acuoso dosis mayor 0.35gr/Kg	163 ± 3	148 ± 3 ^{1a}	142 ± 3 ^{1a}	142 ± 3 ^{1a}
E. Diabético + Extracto acuoso dosis menor 0.03gr/Kg	173 ± 5	170 ± 9 b	161 ± 6 ¹ b	148 ± 4 ^{1a}
F. Diabético + Extracto etanol-agua dosis mayor 0.3gr/kg	173 ± 4	162 ± 5	155 ± 4 ^{1a}	144 ± 3 ^{1a}
G. Diabético + Extracto etanol-agua-dosis menor 0.03gr/kg	167 ± 4	161 ± 3	156 ± 3 ^{1a}	147 ± 4 ^{1a}

n= 11. Los valores representan la media ± error estándar. 1. Significativo contra el tiempo cero de su propio grupo (ANOVA Bonferroni), a. Significativo contra el grupo diabético, b. Significativo contra el grupo diabético + extracto a dosis mayor (ANOVA Fisher) ($p \leq 0.05$).

De acuerdo con el cuadro 5 se tiene que:

Grupo B: Los valores de la glucosa sanguínea difieren significativamente del grupo control no diabético en los tiempos 0, 60, 120 y 180.

Grupo C: Los valores de glucosa sanguínea son significativos a partir del tiempo 60 y se mantuvieron hasta el tiempo 180 al compararlos tanto con su propio tiempo cero y con el grupo control diabético.

Grupo D: Hubo una diferencia significativa en los valores de glucosa sanguínea a partir del tiempo 60 y se mantuvo hasta el tiempo 180 al compararlo contra su propio tiempo cero y con el grupo control diabético.

Grupo E: Los valores de glucosa sanguínea son significativos a partir del tiempo 120 y se mantiene en el tiempo 180 al comparar los valores contra su propio tiempo cero, sin embargo, al compararlo contra el grupo control diabético solo hubo diferencia significativa en el tiempo 180. Al comparar este grupo contra el grupo D, se obtuvo una diferencia significativa en los tiempos 60 y 120.

Grupo F y G: Hubo una diferencia significativa en los valores de glucosa sanguínea en los tiempos 120 y 180 al comparar ambos grupos contra su propio tiempo cero y contra el grupo diabético. No hubo diferencia significativa entre los grupos diabéticos + extracto etanol –agua a dosis mayor y menor.

Pruebas fitoquímicas

De la Cromatografía en Capa Fina, los resultados se observan en la cuadro 6. Así mismo se muestran las fotografías de las placas (Fig. 8, 9, y 10), no todas las franjas registradas se alcanzan a ver por la resolución de la impresión.

Cuadro 6. Metabolitos secundarios detectados por medio de CCF

Preparaciones de <i>B. plumieri</i>	Metabolitos secundarios			
	Flavonoides glicosilados	Flavonoides agliconas	Terpenos	Alcaloides
1. Hexánico	-	-	4	-
2. Butanólico	7	7	2	-
3. Etanol- agua	4	4	2	-
4. Acuoso	6	1	2	-
5. Jugo de frutos liofilizado	5	1	-	-

Los valores indican el número de franjas de metabolito detectado, (-) Metabolito no detectado.

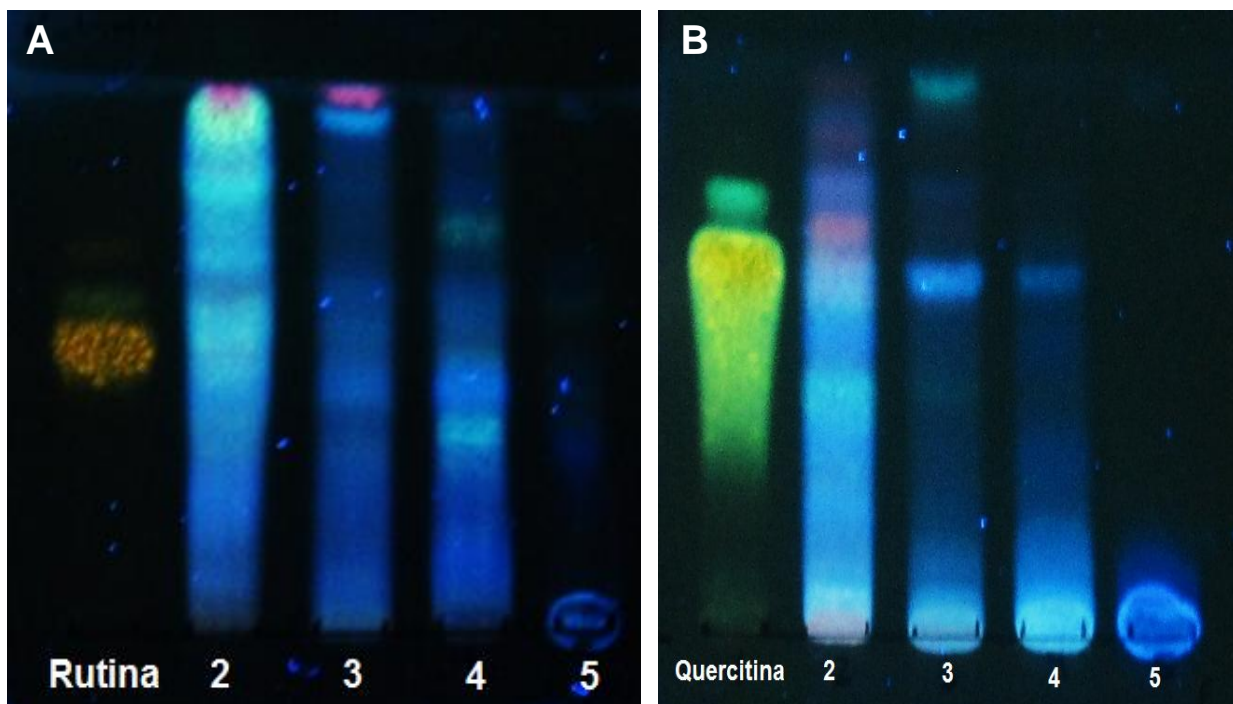


Fig. 8. Placas de CCF para detectar flavonoides. A) Flavonoides glicosilados, B) Flavonoides agliconas. 2= extracto butanólico, 3= extracto etanol-agua, 4= extracto acuoso, 5= jugo de frutos liofilizado.

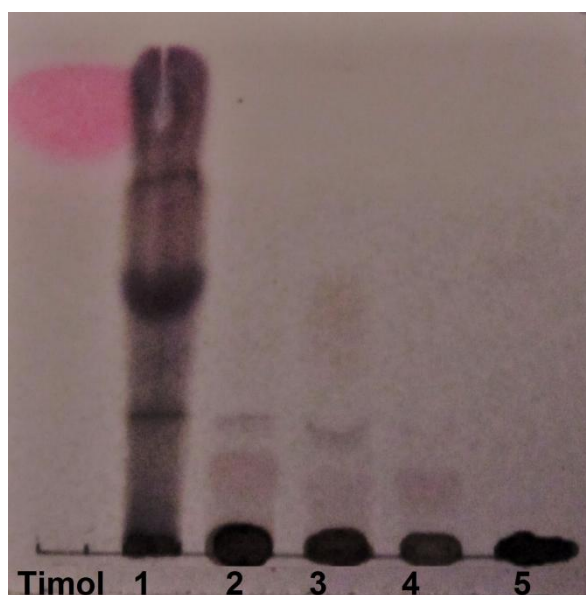


Fig. 9. Placa de CCF para detectar terpenos. 1= extracto hexánico, 2= extracto butanólico, 3= extracto etanol-agua, 4= extracto acuoso, 5= jugo de frutos liofilizado.

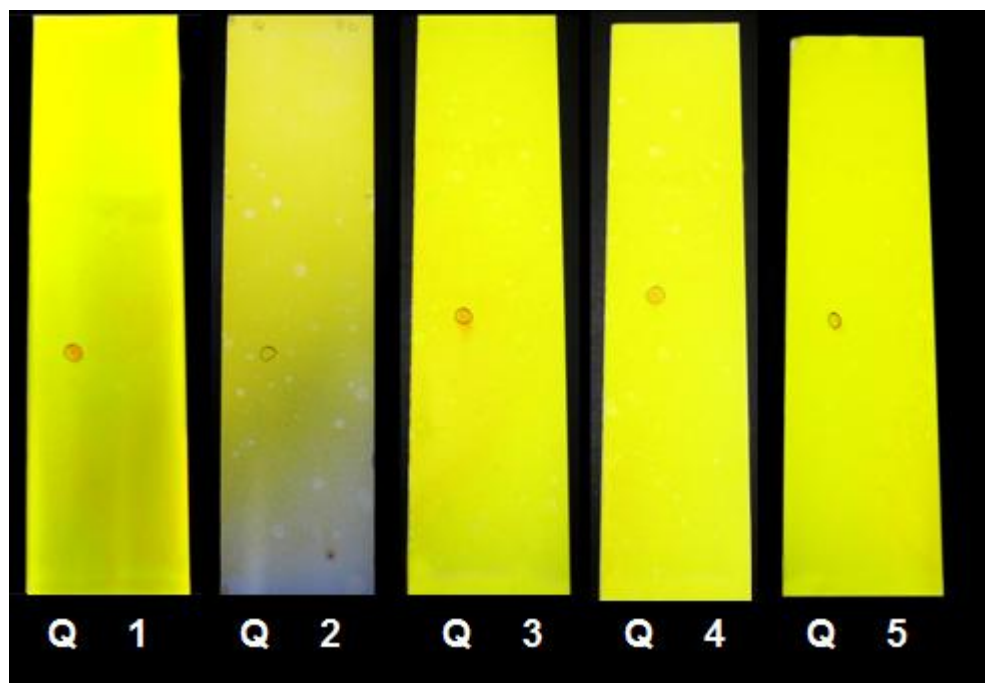


Fig. 10. Placas de CCF para detectar alcaloides, Q= quinina, 1= extracto hexánico, 2= extracto butanólico, 3= extracto etanol-agua, 4= extracto acuoso, 5= jugo de frutos liofilizado.

VII. Discusión

El uso de la herbolaria para tratar la diabetes se ha observado en una importante parte de población de México (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), por lo que es necesario estudiar la actividad farmacológica de las plantas utilizadas de manera tradicional para validar su uso, eficacia y dar seguridad a las comunidades que la utilizan (Andrade-Cetto, 2009). Aunado a ello, esta aproximación podría llevar al descubrimiento de nuevas sustancias farmacológicamente activas para el tratamiento de la diabetes, las cuales podrían ser transformadas en medicamentos, basta con poner como ejemplo a la metformina que proviene del uso tradicional de *Galega officinalis* (Brahmachari, 2011, Sharapin, 2000).

En este trabajo se evaluó el efecto hipoglucemiante de *Bromelia plumieri* para el tratamiento de la diabetes; para ello se utilizó el modelo inducido con NA-STZ que permitió la obtención de grupos diabéticos, lo que se puede observar al comparar los niveles de glucosa sanguínea del grupo control diabético contra el control no diabético en los cuatro tiempos de medición, ya que las diferencias en los niveles de glucosa sanguínea resultaron ser estadísticamente significativos (Cuadro 6).

Por otra parte se puede observar que este modelo tiene respuesta a la glibenclamida a partir del tiempo 60 ya que al comparar este grupo, con su propio tiempo cero y contra el grupo de control diabético, se puede observar una disminución de los niveles de glucosa sanguínea, el cual es estadísticamente significativo. Esta respuesta se mantiene hasta el tiempo 180.

A pesar de que en este experimento la STZ fue inyectada intraperitonealmente y no de manera intravenosa como en el modelo original de Masiello, et al. (1998), los resultados concuerdan con este en cuanto a la obtención de hiperglicemia moderada y respuesta a las sulfonilureas, en este caso a la glibenclamida.

Para los grupos experimentales D y E, donde se les administró el extracto acuoso de *B. plumieri*, los resultados indican que existe un efecto hipoglucemiante de este extracto en las ratas NA- STZ al comparar estos grupos contra su propio tiempo cero y contra el grupo control diabético. En el grupo en que se administró la dosis mayor, este efecto fue estadísticamente significativo a partir del tiempo 60 y se mantuvo durante las tres horas

que duró el experimento; en contraste, en el grupo donde se administró la dosis menor este efecto fue significativo a partir del tiempo 180. Teniendo en cuenta que a dosis mayor existe una rápida absorción, los metabolitos presentes en este extracto, en esa dosis, llegarían en menos tiempo a la circulación sanguínea y se asociarían por lo tanto de manera temprana a su efecto terapéutico, como se puede apreciar al comparar los niveles de glucosa sanguínea de los grupos D y E en el tiempo 60 y 120, donde existe una diferencia significativa entre ellos.

Para los grupos experimentales F y G se observa un efecto hipoglucemiante para ambas dosis, ya que se observa la disminución de los niveles de glucosa sanguínea en el tiempo 120 y 180 al compararlos con su propio tiempo cero como con el grupo control diabético, no habiendo diferencia entre el inicio del efecto hipoglucemiante o al comparar los niveles de glucosa sanguínea entre ambos grupos (Cuadro 5)

Para determinar qué metabolitos secundarios podrían estar involucrados en el efecto hipoglucemiante se realizaron pruebas cualitativas de CCF para flavonoides, terpenos, y alcaloides.

La prueba de Cromatografía en Capa Fina para flavonoides en los extractos acuoso y etanol agua dio positivo, observándose seis franjas de flavonoides glicosilados y una franja de flavonoides agliconas en el extracto acuoso e igualdad de franjas para flavonoides glicosilados y agliconas en el extracto etanol-agua, observándose cuatro franjas (Cuadro 6, Fig.8).

En la CCF de flavonoides glicósidos para el extracto acuoso se observan franjas con coloraciones amarillo-verdes que son indicativos de posibles flavonas y flavonoles glicosilados de acuerdo a Wagner y Bladt (2001). Aunado a esto, al extracto acuoso y etanol-agua se les realizó una prueba cualitativa de SHINODA, que identifica la presencia de los distintos grupos de flavonoides ante el cambio de coloración, observándose una coloración marrón para el extracto etanol-agua y amarillo claro para el extracto acuoso que se relacionan igualmente con flavonas y flavonoles (ANEXO 2).

Con estos resultados se sugiere que el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso y etanol-agua se debe a estos grupos de flavonoides presentes en ambos extractos, ya que de acuerdo con el trabajo de Torres- Piedra, y colaboradores en 2010, sugieren que la estructura básica de las flavonas, incluyendo 3-hydroxiflavonas (flavonoles), posee actividad hipoglucemiante por sí misma, esto después de probar seis flavonoides relacionados estructuralmente en ratas con glicemia normal y ratas tratadas con NA (110 mg/kg) y STZ (65 mg/kg) (Torres- Piedra, et al., 2010). Williams en 1978 propone que el que no se hubieran detectado en su estudio este tipo de flavonoides en *B. plumieri* pudo deberse a las condiciones de crecimiento de invernadero del cual se tomaron las plantas, lo que provocó una baja producción de los compuestos y por lo tanto que no se detectaran (Williams, 1978).

La presencia de un número mayor de flavonoides glicosilados y agliconas en el extracto butanólico (7 y 7 respectivamente), en comparación con los extractos acuoso y etanol-agua, pudiera deberse a que en estos extractos estarían en muy bajas concentraciones. Por otro lado, en base a estos estudios preliminares de CCF para flavonoides en el jugo

de frutos liofilizado, y al estar reportado su uso para el tratamiento de la diabetes (Flora of Kaxil Kiuic, 2005), se sugiere evaluar el efecto hipoglucemiante de este jugo. Aunque el resultado podría ser diferente por la diferencia en el tipo de flavonoides glicosilados encontrados, en comparación a los de los extractos de las hojas de *B. plumieri*; de ser positivo, esta especie tendría un gran potencial para ser utilizado como alternativa terapéutica o como coadyuvante en el tratamiento de la diabetes.

La presencia de flavonoides en esta especie tanto en hojas como en frutos, concuerda con algunos estudios fitoquímicos de la familia Bromeliaceae, en donde se ha observado que los flavonoides son, además de los cicloartanos, compuestos característicos de esta familia (Manetti, et al., 2009), por ejemplo, en *Bromelia pinguin L.* se ha observado la presencia de estos en las hojas, tallo y frutos, tanto en plantas con fructificación o sin está, secas o frescas (Abreu y Miranda, 2000).

La detección de menos terpenos en los extractos acuoso y etanol-agua con respecto al extracto hexánico pudiera deberse a que se encuentren en bajas concentraciones. Por otro lado no podría descartarse que su presencia tuviera que ver sobre el efecto hipoglucemiante observado para los extractos acuoso y etanol- agua ya que en diversos estudios se ha observado que algunos terpenos poseen este efecto farmacológico (Zhang, et al., 2011, Lamba, et al., 2000), sin embargo, es poco probable que así sea por ser los flavonoides los compuestos que difieren en los extractos probados.

Para el caso de los alcaloides, en todos los extractos tanto de hoja como de fruto, la detección fue negativa. Sin embargo, para conocer más sobre la fitoquímica de la planta,

habrá que realizar una extracción alcalóidica para asegurar la presencia o ausencia en esta.

Cabe resaltar que detección de flavonoides glicósidos y agliconas, de terpenos, y la ausencia de alcaloides en las hojas y frutos, son un aporte en la fitoquímica de *B. plumieri*, ya que no habían sido reportados.

Para determinar el mecanismo de acción de estos extractos son necesarios más estudios, sin embargo, y de acuerdo con Brahmachari en 2011, donde se hace una revisión sobre flavonoides con efecto hipoglucemiante con énfasis en su mecanismo de acción, las vías que podrían investigarse son: el actuar como estimulantes de la secreción de insulina por la activación de la cascada de señalización cAMP/PKA; estimular la disponibilidad de glucosa por parte de los tejidos periféricos; o regulando la actividad y/o expresión de la tasa límite de las enzimas involucradas en la vía del metabolismo de los carbohidratos incluyendo la inhibición de las alfa glucosidasas (Brahmachari, 2011, Fontana, et al, 2011; Yumar, et al., 2009)

Debido a esto es necesario realizar más investigaciones, en primer lugar determinar si los flavonoides son los responsables del efecto hipoglucemiante y si lo son, se deberá investigar cuál es su mecanismo de acción. El conocer estos datos permitirá un análisis más completo para validar la eficacia y seguridad de esta planta, así mismo, estudios posteriores podrían llevar a la producción de un fitofármaco que podría ser utilizado como alternativa terapéutica o como coadyuvante en el tratamiento de la diabetes.

VIII. Conclusiones

De acuerdo con el trabajo se tiene que:

- La administración aguda por vía oral del extracto acuoso de *Bromelia plumieri* a dosis 0.35 g/kg y dosis 0.035 g/kg tienen efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con NA-STZ. El tiempo de inicio del efecto guarda relación con la dosis administrada.
- La administración aguda por vía oral del extracto etanol-agua *Bromelia plumieri* a dosis 0.3 g/kg y dosis 0.03 g/kg tienen efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con NA-STZ. El tiempo de inicio del efecto no guarda relación con la dosis administrada.
- Se detectó por medio cromatografía la presencia de terpenos solo en los extractos con hoja, la presencia de flavonoides en todos los extractos No se detectaron alcaloides en ningún extracto.
- Se promueve determinar la estructura química de los compuestos que producen el efecto hipoglucemiante así como los mecanismos de acción por los que actúan los extractos probados.

IX. Literatura citada

- Abreu, J., & Miranda, M. (2000). Estudio Farmacognóstico de *Bromelia pinguin* L. (Piña de ratón). I. *Revista Cubana de Farmacia*, 34(3), 181–186.
- Aguilar, A., y Xolalpa, S. (2002). La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. *Ciencia*, 53(3), 24-35.
- Aguilar-Salinas, C. A., y Rojas, R. (2012). Epidemiología de la diabetes y el síndrome metabólico en México. *Ciencia*, 63(1), 36-45.
- Amaya, A., Dolores, E., Álvarez, P., Ferreira, G., Gómez, L. M., y Galar, M. (2007). Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglucemiante de la glibenclamida. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(3), 5-11.
- Andrade-Cetto, A. (1999). Estudio etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal y Chalm. y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis que para obtener el título de Doctor en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Andrade-Cetto, A. (2009). Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *Journal of ethnopharmacology*, 122(1), 163-71.
- Andrade-Cetto, A., y Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3), 325-348.
- Andrade-Cetto, A., y Heinrich, M. (2011). From the Field into the Lab: Useful Approaches to Selecting Species Based on Local Knowledge. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 1-5.
- Barba De Piña, B. (2002). Diabetes y medicina tradicional en México. *Ciencia*, 53(3), 18-23.
- Barceló, A., Aedo, C., Rajpathak, S., y Robles, S. (2003). The cost of diabetes in Latin America and the Caribbean. *Bulletin of the World Health Organization*, 81(1), 19-27

- Bioversity International. Consultado el 20 de Septiembre de 2012, en: http://www.bioversityinternational.org/databases/new_world_fruits_database/detail.html?tx_wfqbe_pi1%5Bspecies_id%5D=319
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., y Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161, 839–851.
- Brahmachari, G. (2011). Bio-flavonoids with promising anti- diabetic potentials : A critical survey. En V. K. Tiwari (Ed.), *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry* (pp. 187–212). India: Research Signpost.
- Briskin, D. P. (2000). Medicinal Plants and Phytomedicines . Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. *Plant Physiology*, 124, 507–514.
- Brunton, L., Chabner, B. A., & Knollmann, B. (2010). *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*. (12th ed., p. 1808). McGraw-Hill.
- Cheng, A. Y. Y., y Fantus, I. G. (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ: Canadian Medical Association journal*, 172(2), 213–226.
- Conget, I. (2002). Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *Revista Española de Cardiología*, 55(5), 528-535.
- Díaz, J. (1976). Usos de las plantas medicinales de México (p. 311). México: Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales A.C. (IMEPLAM A.C.).
- Díaz-Flores, M., Baiza-Gutman, L. A., Ibáñez-Hernández, M. Á., Pascoe-Lira, D., Guzmán-Greenfel, A. M., y Kumate-Rodríguez, J. (2004). Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gaceta Médica de México*, 140(4), 437-448.
- Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A. R., & Ramírez-Morillo, I. (2005). *Flora de Veracruz. Bromeliaceae* (Fascículo 136, p. 103). México: Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz, México.

- Figueroa, J. (2009). Reflexiones respecto a plantas medicinales y su enseñanza en medicina. *Revista Digital Universitaria* 10 (8), 1-11.
- Flora of Kaxil Kiuic, (2005). Consultado el 12 de septiembre de 2011, en: http://chalk.richmond.edu/flora-kaxil-kiuic/b/bromelia_karatas.html
- Flores, J. S., Canto-Aviles, G. C. O., y Flores-Serrano, A. G. (2001). Plantas de flora yucatanense que provocan alguna toxicidad en el humano. *Revista Biomédica*, 12, 86–96.
- Fontana, D., Cazarolli, L. H., Lavado, C., Mengatto, V., Bonorino, M. S. R., Guedes, A., Geraldo, M., et al. (2011). Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: potential targets for glucose homeostasis. *Nutrition*, 27, 1161–1167.
- Fried, B., & Sherma, J. (1999). *Thin-Layer Chromatography, Revised And Expanded* (4th ed., p. 512). New York: Taylor & Francis.
- Fröde, T. S., y Medeiros, Y. S. (2008). Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of ethnopharmacology*, 115(2), 173-83.
- González-Salvatierra, C., Luis Andrade, J., Escalante-Erosa, F., García-Sosa, K., y Manuel Peña-Rodríguez, L. (2010). Antioxidant content in two CAM bromeliad species as a response to seasonal light changes in a tropical dry deciduous forest. *Journal of plant physiology*, 167(10), 792-9.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed., p. 320). London, UK: Chapman and Hall.
- Hornung-Leoni, C. T. (2011). Avances sobre Usos Etnobotánicos de las Bromeliaceae en Latinoamérica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(4), 297 - 314.
- Hornung-Leoni, C. T. (2011). Bromeliads: Traditional Plant Food in Latin America Since Prehispanic times. *Polibotánica*, 32, 219–229.

- Lamba, S. S., Buch, K. Y., Lewis, H., y Lamba, J. (2000). Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, 21, 457–496.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, 216-226.
- Levy, M. N., Stanton, B. A., & Koeppen, B. M. (2006). Parte VIII Sistema endócrino. *Berne y Levy Fisiología* (4th ed., p. 836). Madrid, España: Elsevier Imprint.
- Manetti, L. M., Horwat, R., & Laverde, A. (2009). Metabolitos secundarios de la familia Bromeliaceae. *Quimi Nova*, 32(7), 1885–1897.
- Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli, M., et al. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229.
- Muoio, D. M., y Newgard, C. B. (2008). Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9, 193–205.
- Murrow, B. A., y Hoehn, K. L. (2010). Mitochondrial regulation of insulin action. *The international journal of biochemistry y cell biology*, 42, 1936-1939.
- Oscanoa, J. M. (2005). Monografía- Estudio Fármaco- Botánico de *Desmodium mollicum*. Perú. Consultado el 24 abril 2011 En: <http://www.botanical-online.com/col/manapuya.htm>
- Parada, F., y Duque, C. (1998). Studies on the Aroma of Piñuela Fruit Pulp (*Bromelia plumieri*): Free and Bound Volatile Composition and Characterization of Some Glucoconjugates as Aroma Precursors. *J. High Resol. Chromatorgr.*, 21(10), 577-581.
- Phillipson, J. D. (2007). Phytochemistry and pharmacognosy. *Phytochemistry*, 68, 2960–72.
- Serrano-Ríos, M. and J. A. Gutierrez-fuentes (2010). *Diabetes mellitus: type 2* (p. 352). España: Elsevier.

- Sharapin, N., Rocha, L. M., & Pinzón S., R. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (p. 247). Colombia: Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo : Subprograma X Química Fina Farmacéutica.
- SIIT*mx Sistema Integrado de Información Taxonómica 2009, CONABIO. Consultado el 12 de septiembre de 2011, en: http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/taxastep?king=Plantaeyp_action=exactly+forytaxa=Bromelia+plumieriyp_format=yp_ifx=itismxyp_lang=es
- Srinivasan, K., y Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *The Indian journal of medical research*, 125(3), 451-72.
- Swami, S., Singh, Su., Longo, G., & Dutt, D. (Eds.). (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants* (p. 260). Italia: ICS-UNIDO.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50, 537-546.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 237(5), 481–90.
- Torres-Piedra, M., Ortiz-Andrade, R., Villalobos-Molina, R., Singh, N., Medina-Franco, J. L., Webster, S. P., y Binnie, M. (2010). A comparative study of flavonoid analogues on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: quercetin as a potential antidiabetic agent acting via 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition. *European journal of medicinal chemistry*, 45(6), 2606-12.
- Vlietinck, A., Pieters, L., y Apers, S. (2009). Legal requirements for the quality of herbal substances and herbal preparations for the manufacturing of herbal medicinal products in the European Union. *Planta medica*, 75, 683-688.

- WHO. World Health Organization, (2006). *Guidelines for the prevention, management and care of diabetes mellitus*. (O. Khatib, Ed.) *EMRO Technical Publication Series* (p. 81). EMRO Technical Publications Series.
- WHO. World Health Organization, (2011). (Consultado el 4 Octubre 2011) <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>
- Williams, C. (1978). The systematic implications of the complexity of leaf flavonoids in the bromeliaceae. *Phytochemistry*, 17, 729–734.
- Yumar, V. D., González-Mujica, F., Motta, N., Rodríguez, M., y Hasegawa, M. (2009). Purificación parcial de un compuesto presente en las hojas de *Bauhinia megalandra* capaz de inhibir la absorción intestinal de Glucosa. *Archivos venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 28(1), 40-42.
- Zhang, Z., Zhang, W.-S., Ye, H., Wang, F., & Wei, L.-P. (2011). Oral Hypoglycemic Drugs and Hypoglycemic Active Elements from Plants for the Treatment of Diabetes Mellitus: A Review. The 5th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, (iCBBE 2011). Institute of Electrical and Electronic Engineers, Inc.

ANEXO 1

Reveladores

Método estandarizado para las pruebas de CCF del Laboratorio de Etnofarmacología.

- Natural Products.

Se disolvieron 0.5 g de ácido difenilborico β -etilamino ester en 50 ml de metanol. Las placas se asperjaron y se observaron en UV -365nm.

- Vainillina – ácido sulfúrico.

Se disolvieron 0.5 g de vainillina en 50 ml de ácido sulfúrico. La placa se asperjó y se calentó en la estufa por 5 minutos.

- Drangendorff.

Para la solución 1, se disolvieron 0.85 g de nitrato de bismuto básico en 40 ml de agua y 10 ml de ácido acético al 99%.

Para la solución 2, se disolvieron 8 g de ioduro de potasio en 20 ml de agua.

ANEXO 2

REACCION DE SHINODA

De esta reacción resultan coloraciones características según el tipo de núcleo de los flavonoides, se agregan de 2 a 3 virutas de magnesio y unas gotas ácido clorhídrico concentrado.

Cuadro 7- Coloración con reacción de SHINODA (Oscanoa, 2005)

FLAVONOIDE	COLORACIÓN
Chalconas	Negativo
Auronas	Negativo
Isoflavononas	Negativo
Isoflavonas	Amarillo rojizo
Flavanonas	Azul magenta, violeta, rojo
Flavanoles	Rojo a magenta
Flavonas y flavonoles	Amarillo a rojo

Fe de erratas

Portada dice: “Estudio del efecto hipoglucemiante de *Bromelia plumieri* (E. Morr.) L.B. Smi. en ratas tratadas con NA-STZ”, siendo que debiera decir “Estudio del efecto hipoglucemiante de *Bromelia plumieri* (E. Morren) L.B. Sm. en ratas tratadas con NA-STZ”.