



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto hipoglucemiante de extractos de la raíz de
Smilax moranensis M. Martens & Galeotti en ratas
n5-STZ**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO**

P R E S E N T A :

Sergio Palapa Resendiz

**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Adolfo Andrade Cetto**



2013



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.



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.

Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno

Palapa

Resendiz

Sergio

55691539

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

300262294

2. Datos del tutor

Dr.

Adolfo

Andrade

Cetto

3. Datos del sinodal 1

Dr.

René de Jesús

Cárdenas

Vázquez

4. Datos del sinodal 2

Lic. en Bioq.

Carlos Manlio

Díaz

García

5. Datos del sinodal 3

Dra.

María del Carmen

Miñana

Solis

6. Datos del sinodal 4

Biól.

Isabel

Mejía

Luna

7. Datos del trabajo escrito.

Efecto hipoglucemiante de extractos de la raíz de *Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti en ratas n5-STZ

67 p

2013



FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

DR. ISIDRO ÁVILA MARTÍNEZ
Director General
Dirección General de Administración Escolar
Presente

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

Efecto hipoglucemiante de extractos de la raíz de Smilax moranensis M. Martens & Galeotti en ratas n5-STZ

realizado por **Palapa Resendiz Sergio** con número de cuenta **3-0026229-4** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez

Propietario Lic. en Bioq. Carlos Manlio Díaz García

Propietario Dr. Adolfo Andrade Cetto

Tutor Dra. María de Carmen Miñana Solís

Suplente Biól. Isabel Mejía Luna

Atentamente

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU ”
Ciudad Universitaria, D. F., a 19 de junio de 2013
EL JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

MAG/mdm

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por darme la oportunidad de estudiar y desarrollarme profesionalmente y que a lo largo de mi vida ha sido un segundo hogar.

A **PAPIIT** por haber financiado parcialmente este trabajo a través del proyecto In214413.

A **PAPIIT** 228510 y **CONACyT** CB 151264 por la beca otorgada.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto Por la paciencia que me ha brindado, por el apoyo incondicional en darme la oportunidad de realizar el proyecto en el laboratorio que dirige, por su amabilidad y compromiso con el proyecto.

A la Biol. Isabel Mejía Luna por ser más que mi maestra, ser una amiga que me guio durante la realización del presente trabajo, gracias por su confianza e invaluable apoyo.

A mis sinodales:

Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
Lic. en Bioq. Carlos Manlio Díaz García
Dra. María del Carmen Miñana Solis

...Por su esfuerzo y dedicación, quienes con su conocimiento, experiencia, su paciencia y motivación han lo grado dar una visión crítica y oportuna, lo que me permitió terminar con éxito el presente trabajo.

Al Biol. Alejandro Frías por su amistad y por permitirme expandir mis horizontes al confiar plenamente en mis capacidades.

A los miembros del Bioterio De la Facultad DE Ciencias, UNAM:

M.V.Z. Mario J. Soriano Bautista
Biol. Dor Maria Salazar Castelo
Bio. María Isabel Antunez de la Rosa
M. en C. Agustin Carmona Castro.

...Por su apoyo en el manejo de los animales experimentales.

DEDICATORIA

A mi toda mi familia, que no se limita a los lazos de sangre.

A mis padres por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por darme la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A la Maguichi por su incansable cariño y esa sonrisa que me regala cada día, a mi má Cory por su apoyo y cariño que siento a diario, Al Mino y a mí Mina por siempre considerarme uno más de sus hijos y abrirme su corazón.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida y estar siempre a mi lado. A Oscar y a Marisol por compartir en este arduo camino todas las alegrías y los momentos difíciles, a Alejandro y la Cristita por apoyarme en todo momento.

A mis tías Cheli, por ser una gran amiga, su gran sazón y aguantar mis locuras.

Al Güero por la amistad que me brinda y mostrarme el valor del trabajo duro.

A mis tías y tíos que aunque lejos siempre estuvieron pendientes de mi, A mi tía Eva por el cariño que siempre me monstro, a mi tío Negro por brindarme su amistad.

A todos los primos y sobrinos, A los Cuquitos Bryan y Jair, a la Veterana, a Ariana, Erick, a mis hermanos pequeños, Fer, Bryan y Dilan, que me enseñan nuevas formas de ver el mundo con sus locuras.

A el Buen Jaime por ser un gran hermano y maestro, por esa amistad que la distancia no ha logrado romper.

A mis amigos entrañables Ana, Pepe y Fer por todas esas cosas que compartimos y que me enseñaron nuevos caminos y pasiones.

A Valeria por ser pieza fundamental en mi vida, por dejarme mirar sus sueños y compartirme su mundo.

A la bandera Beck, Nayelli, Brenda, Mayra, El Temoc, Pauleta, El Guadañas, Tato, Osmar, la Areita. Por ese lazo fraternal que nos une.

A la CEIMSA y sus chalanes, el Duben y el More por su amistad.

Son muchas las personas que han formado parte importante de mi vida, a las que me encantaría agradecerles su amistad, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. A algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todo su cariño.

"The man who comes back through the Door in the Wall will never be quite the same as the man who went out. He will be wiser but less sure, happier but less self-satisfied, humbler in acknowledging his ignorance yet better equipped to understand the relationship of words to things, of systematic reasoning to the unfathomable mystery which it tries, forever vainly, to comprehend"

Aldous Huxley

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
--------------	---

INTRODUCCIÓN

Diabetes mellitus.....	3
Secreción de insulina.....	3
Complicaciones de la diabetes.....	4
Diagnostico de diabetes.....	5
Clasificación de la diabetes.....	6
Diabetes en México.....	7
Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2.....	7
Plantas hipoglucemiante.....	13
Etnofarmacología.....	14
Fitoquímica.....	16
Cromatografía en capa fina.....	17
Cromatografía liquida de alta resolución.....	17
Modelos animales de diabetes tipo 2	18
Modelo n-STZ.....	20

ANTECEDENTES DE LA PLANTA

Ubicación taxonómica.....	23
Descripción.....	24
Distribución.....	26
Antecedentes etnobotánicos.....	27
Antecedentes fotoquímicos.....	28
Antecedentes farmacológicos.....	30

JUSTIFICACIÓN.....	32
--------------------	----

HIPÓTESIS.....	33
----------------	----

OBJETIVO.....	34
---------------	----

METODOLOGÍA GENERAL

Colecta de <i>S. moranensis</i>.....	35
Elaboración de extractos de <i>S. moranensis</i>.....	35
Animales de experimentación.....	36

DISEÑO EXPERIMENTAL

Grupos experimentales.....	39
Cromatografía en capa fina (TLC).....	40
Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	41

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	42
----------------------------------	-----------

RESULTADOS.....	43
------------------------	-----------

DISCUSIÓN.....	51
-----------------------	-----------

CONCLUSIONES.....	55
--------------------------	-----------

LITERATURA CONSULTADA.....	56
-----------------------------------	-----------

ANEXO.....	66
-------------------	-----------

RESUMEN

La diabetes mellitus 2, es un problema de carácter público mundial, el cual ha tenido un incremento significativo en el número de pacientes. La Organización Mundial de la Salud estima que el número de pacientes con esta enfermedad se incrementará de 2,179,000 existentes en el año 2000 a casi 6,130,000 para el año 2030 (WHO,2012).

Esta patología es muy frecuente en nuestro país en personas entre los 20 y 70 años de edad, lo que provoca que la prevención y tratamiento sean prioridad para el sector salud. Gran número de pacientes son tratados con hipoglucemiantes orales. Sin embargo en la República Mexicana es común que los pacientes recurran al uso de tratamientos herbolarios.

Para México se tiene una lista documentada de alrededor de 306 especies de 235 géneros y 93 familias con uso como hipoglucemiante (Andrade-Cetto y Henrich, 2005). Este trabajo evaluó el efecto hipoglucemiante de la raíz de *Smilax moranensis* (*S. moranensis*), planta utilizada en la comunidad de Santos Reyes, Nopala en el estado de Oaxaca, México; para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

El estudio se realizó con el modelo de ratas neonatales con diabetes inducida por estreptozotocina (nSTZ). Se probaron los extractos: acuoso (uso tradicional) y etanol-agua (1:1). Los extractos obtenidos de *S. moranensis* se caracterizaron por medio de dos pruebas cromatográficas, TLC y HPLC. Con las cuales se identificaron los compuestos que presenta la raíz.

Los resultados del efecto hipoglucemiante de los extractos fueron analizados por medio de una prueba de ANOVA y Dunett, para la relación entre tratamientos, y para la comparación entre valores del mismo tratamiento se utilizó una prueba de Tukey.

Como control positivo se administraron los hipoglucemiantes orales glibenclamida en dosis de 5mg/kg la cuál mostró un efecto significativo a las dos horas de haber sido administrada, mientras que la metformina en una dosis de 12 mg/kg no mostró un efecto hasta el minuto 180.

Los extractos acuosos de la raíz de *S. moranensis* se administraron en dos dosis: 20 mg/kg y 200mg/kg, mostrando un efecto hipoglucemiante en el minuto 120 y 60 respectivamente y hasta el tiempo 180.

Los extractos etanol-agua se administraron en las mismas dosis, la dosis tradicional (20 mg/kg) mostró valores significativos sólo en el minuto 120, mientras que la dosis alta (200mg/kg), mostró significancia a partir del minuto 120, pero sólo con respecto al tiempo 0 (T0) del mismo tratamiento.

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE *Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti EN RATAS n5-STZ

INTRODUCCIÓN

Diabetes mellitus

La incidencia de los casos de diabetes mellitus se ha incrementado en las últimas décadas, la Organización Mundial de la Salud (W.H.O. por sus siglas en ingles) estima que el número de casos se incrementará de 171 millones en el año 2000 a 336 millones para el año 2030 en todo el mundo. En México el número de pacientes diabéticos aumentará de 2, 179, 000 existentes, a 6,130,000 durante el mismo periodo, esto implica un incremento aproximado de 281% (WHO,2012).

En la actualidad México es el noveno país con mayor incidencia de diabetes en el mundo. La Secretaría de Salud (SSa) estima que la diabetes es la primera causa de muerte en el país. Esta afección también es una de las principales causas de enfermedades cardíacas y ceguera adquirida en adultos en edad productiva (SSa, 2012).

La diabetes mellitus es un término que describe un desorden metabólico de etiología múltiple, caracterizado por una hiperglucemia crónica, con alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono, de lípidos y proteínas, por defecto en la secreción y/o acción de la insulina (WHO, 2012).

La insulina es la hormona secretada por la células β del páncreas. Las acciones fisiológicas de la insulina están caracterizadas por la modulación del transporte de glucosa y aminoácidos, activadores de enzimas clave en el metabolismo, en la tasa de proteínas, síntesis de ADN y ARN, transcripción de genes específicos, diferenciación y crecimiento celular. (Moran, 2006)

Secreción de insulina

Las células β liberan insulina por el proceso de exocitosis, en estas células la entrada de la glucosa es mediada por los transportadores de glucosa tipo 2 (GLUT2) después

de ser metabolizada en la vía glucolítica, la molécula de glucosa es fosforilada por la glucocinasa, así los productos del metabolismo de la glucosa (ATP, NAD^+ y NADH) se incrementan y cierran los canales de potasio sensibles a ATP (K-ATP) en la membrana celular. El cierre de los canales de K-ATP previene la hiperpolarización que causan las corrientes salientes de iones K^+ , lo cual aunado a las corrientes catiónicas no selectivas de fondo, fundamentalmente de iones Na^+ ocasionan la despolarización de la célula β . Después de esto se activan los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje, que mueven iones Ca^{2+} hacia el interior celular, cuyo aumento dispara el proceso de exocitosis de los gránulos de insulina (Hinke, 2004)

La membrana de los gránulos se fusiona con la membrana celular, liberando el contenido de los gránulos. La reincorporación de la membrana de los gránulos es parcialmente reabsorbida por la célula (membrana plasmática) y es reciclada por el aparato de Golgi. Al final del proceso, se produce un reservorio de gránulos acumulados sobre la superficie de la membrana plasmática. (Hinke, 2004 y Moran, 2006)

Los pacientes con diabetes tipo 2 generalmente presentan defectos en las células β de los islotes de Langerhans, éstos van desde una destrucción parcial de las células β del páncreas, con la consiguiente deficiencia de la insulina, hasta condiciones de resistencia a la insulina, los cuales convergen para causar la enfermedad.

En la diabetes frecuentemente se reconocen trastornos de la acción de la insulina con defectos en la secreción de esta, sin saber si una es la causa o consecuencia de la otra (Becerra-Jiménez, 2008).

La acción deficiente de la insulina en los tejidos blanco es la responsable del metabolismo anómalo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas.

Complicaciones de la diabetes

Además de la presencia de una hiperglucemia durante la etapa de ayuno, la diabetes también puede reconocerse por intolerancia a la glucosa. Los síntomas característicos de una marcada hiperglucemia incluyen polidipsia, poliuria, polifagia, visión borrosa y, pérdida o aumento de peso.

La glucosilación de las proteínas tisulares y otras macromoléculas y la excesiva producción de polioles a partir de glucosa, son dos de los mecanismos que se han

propuesto para explicar el daño tisular resultante de la hiperglucemia crónica (Becerra-Jiménez, 2008). Los pacientes con diabetes presentan complicaciones dentro de las que se pueden incluir: retinopatías, que puede derivar en la pérdida de la visión, nefropatía o daño renal, úlceras en pierna y amputación por lesiones difícilmente tratables y mala irrigación en las extremidades inferiores. Además tienen una mayor incidencia de afecciones cardiovasculares, arteroscleróticas y cerebrovasculares (Joslins, 2007).

Todos los individuos que padecen esta enfermedad ven reflejada una disminución de su calidad y esperanza de vida.

Diagnóstico de la diabetes

La prevención de las complicaciones es un tema clave debido a la alta tasa de morbilidad y mortalidad asociadas a esa enfermedad, por lo que es necesario un diagnóstico temprano, para esto se deben realizar pruebas clínicas que determinen los niveles de glucosa sanguínea como son:

- Prueba de glucemia plasmática ocasional- La muestra de sangre del paciente se toma a cualquier hora del día sin relación con el tiempo transcurrido desde la última ingesta de alimento. La glucemia medida en plasma venoso con una concentración ≥ 200 mg/dl (1.11mmol/l). Los síntomas son poliuria, polidipsia y pérdida inexplicable de peso
- Prueba de glucemia plasmática en ayuno- La muestra de sangre del paciente se toma durante un período sin ingesta calórica de al menos 8 horas. La glucemia medida en plasma venoso con una concentración ≥ 126 mg/dl (7 mmol/l).
- Prueba de tolerancia a glucosa- La muestra de sangre del paciente se toma dos horas después de la ingesta de una carga de glucosa anhidra. La glucemia medida en plasma venoso con una concentración ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) (ALAD, 2012).

Clasificación de la diabetes

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO) en 1999 y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) en 2007, la mayoría de los casos de diabetes se pueden clasificar en:

Diabetes tipo 1. Se presenta principalmente por la ausencia total de insulina, resultado de la destrucción de las células β del páncreas por medio de procesos autoinmunes. Este tipo de diabetes se presenta principalmente en niños y jóvenes.

Diabetes tipo 2. Se caracteriza principalmente por la incapacidad de respuesta del cuerpo a la acción de la insulina producida por el páncreas. Se presenta en etapas adultas, frecuentemente relacionada con la obesidad, aunque se ha visto un incremento de casos entre los jóvenes. Este tipo de diabetes incluye alrededor del 90% de los casos de diabetes en el mundo.

Existen otros tipos de diabetes, como la diabetes gestacional y otros desórdenes relacionados a trastornos metabólicos de la glucosa y enfermedades del páncreas, causadas por compuestos químicos o fármacos, pero la frecuencia de estos casos es menor.

Tolerancia anormal a la glucosa (TAG) y Glucosa anormal en ayuno (GAA)

Estos términos se refieren a un estado de alteración metabólico entre la homeostasis normal de la glucosa y la diabetes, también hacen referencia a una prediabetes. TAG y GAA, en ambos casos se utiliza una definición similar, la diferencia radica en los niveles de glucosa plasmática que presenta cada uno para el diagnóstico de los individuos. En estos, se toma una concentración de 109 mg/dl de glucosa plasmática como límite de lo normal.

Actualmente se considera que los individuos que padecen TAG se diagnostican con niveles de glucosa plasmática mayor a 110 mg/dl y menor de 126 mg/dl, mientras que los diagnosticados como GAA presentan concentraciones de glucosa plasmática de 110 mg/dl a 140 mg/dl (ADA, 2011).

La proporción de los casos con TAG es mayor entre la población, con respecto a los casos de GAA. La asociación con el síndrome de resistencia a la insulina, y ser considerados un estado de prediabetes, marca la importancia del diagnóstico y

tratamiento oportuno de estas alteraciones de la glucosa, lo que puede representar la diferencia para frenar el desarrollo de la diabetes.

Diabetes en México

La diabetes tipo 2 es el principal problema de salud del país, es la primera causa de muerte. La Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés) estima que el número de casos aumentara de 7.3 millones durante el año 2006 a 11.9 millones para el 2030, esto representa que México ocupara el lugar 7 entre los países con mayor número de personas con diabetes (Aguilar-Salinas *et al.*, 2011).

La diabetes tipo 2 es una de las diez causas más frecuentes de hospitalización en adultos, esto se traduce en un gran gasto por parte del sector salud estimado en 15 mil 118 millones de dólares durante el año 2000, ocupando la mayor parte de estos recursos (13 mil 144 millones de dólares) para cubrir los costos de indirectos (incapacidad prematura, ceguera, insuficiencia renal terminal y de amputaciones no traumáticas) (Aguilar-Salinas *et al.*, 2011).

Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2

Alrededor del 40% de las personas que padecen diabetes controlan su nivel de glucosa en sangre por medio de hipoglucemiantes orales, otro porcentaje equivalente recurre al control por medio de insulina (WHO, 2012).

Hipoglucemiantes orales

El tratamiento de la hiperglucemia es de suma importancia en los pacientes diabéticos, para prevenir las complicaciones, para ello se emplean, inicialmente un control en los hábitos de alimentación y un aumento en la actividad física, en algunos casos estas prevenciones son eficaces para mantener los niveles de glucosa estables. Sin embargo se ha demostrado que la diabetes es una enfermedad progresiva y que el tratamiento debe modificarse con la evolución de la enfermedad. La combinación de dieta y ejercicio junto con hipoglucemiantes orales son necesarios para lograr mantener los niveles de glucosa en sangre estables (Moller, 2001).

El tratamiento de la hiperglucemia precisa el uso de diferentes hipoglucemiantes orales. Las principales clases de hipoglucemiantes orales pueden dividirse en aquellos que aumentan la secreción de insulina y los que modifican la tasa de entrada de glucosa a partir del tubo digestivo (Fig. 1).

Los secretagogos que estimulan la secreción de insulina, provocan el cierre del canal de potasio sensibles a trifosfato de adenosina (ATP), (K-ATP) en la membrana plasmática del la célula β . Todas las sulfonilureas y secretagogos como por ejemplo la replaglinida y nateglidina, actúan uniéndose a las subunidades SUR-1 de los canales K-ATP, lo cual provoca que estos se cierren. Los diferentes secretagogos dependen de sus características, propiedades farmacocinéticas y afinidad por la subunidad SUR-1, dentro de los cuales encontramos: sulfonilureas, biguanidas, meglitinidas y tiazolidinedionas (Fig. 1).

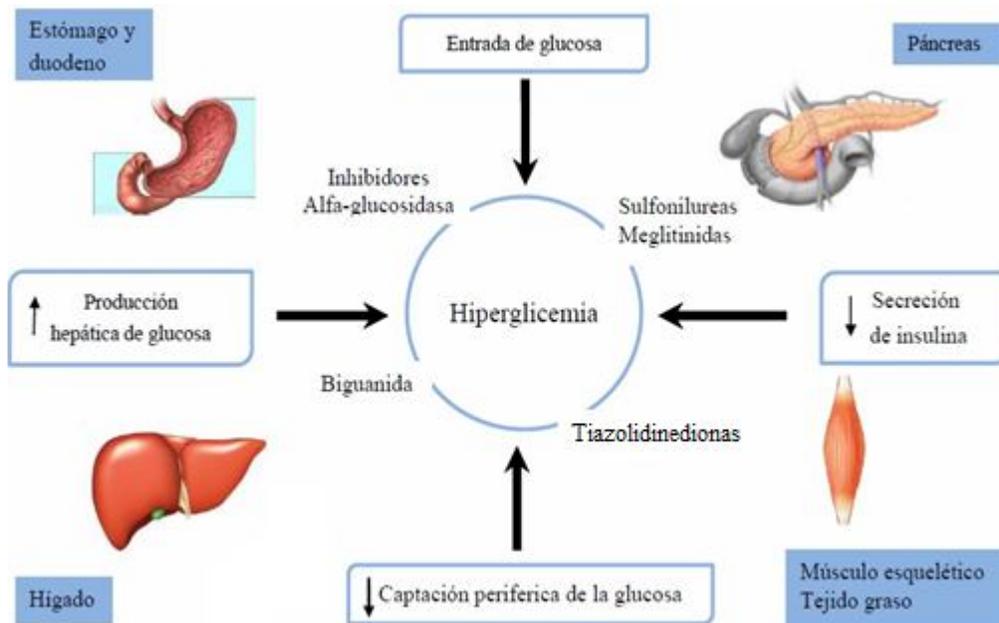


Figura. 1. Esquema de los principales tratamientos de hipoglucemiantes orales y su blanco (Modificado de Becerra-Jiménez, 2008)

Meglitinidas.

La Replaglitidina y la Nateglidina, son secretagogos de insulina no sulfonilureicos. El mecanismo de acción de la liberación de insulina es ligeramente diferente a los de las sulfonilureas. Las meglitinidas interaccionan con la sub unidad SUR-1, en un sitio de

unión específico, diferente al de las sulfonilureas, aunque también provoca el cierre de los canales lo que resulta en una despolarización de la membrana y la exocitosis de los gránulos de insulina. Sus propiedades farmacocinéticas y de interacción con el canal, son responsables de la liberación más rápida de insulina y por lo tanto un efecto más breve que con las sulfonilureas. Debido a que las meglitinidas estimulan la liberación de insulina, es posible que provoquen hipoglucemia (nivel bajo de azúcar en la sangre).

Biguanidas.

La Metformina es una biguanida que se utiliza para el tratamiento de la diabetes tipo 2. Aumenta significativamente la captación de glucosa por el músculo mediada por la insulina. La reducción considerable de la producción hepática de glucosa parece obedecer a un descenso en la gluconeogénesis aunque también existe una cierta reducción de la glucogenólisis. La metformina activa a la cinasa de proteínas activada por monofosfato de adenosina (AMPK), un regulador celular del metabolismo de lípidos y glucosa. Como resultado se reduce la acetil-CoA y se activa la oxidación de ácidos grasos. La metformina es un ejemplo de un medicamento modelado a base de un producto natural el cual se obtuvo de *Galega officinalis* L. tradicionalmente usada como hipoglucemiante. (Andrade-Cetto *et al.*, 2005).

Tiazolidinedionas.

Las tiazolidinedionas, rosiglitazona y pioglitazona. Cuyo principal mecanismo de acción es la reducción de la resistencia periférica a la insulina y la mejora de la sensibilidad a ésta. Son agonistas selectivos del receptor gamma del activador conocido como proliferador del peroxisoma (PPAR) (Islas, 1999).

Inhibidores de α -glucosidasas.

La acarbosa junto a la glucoamilasa, maltasa, sacarasa y dextrinasa. Actúa exclusivamente sobre el tubo digestivo y reduce de manera específica las oscilaciones posprandiales de la glucosa. Los inhibidores de alfa-glucosidasas compiten con los oligosacáridos por el sitio de unión.

La acarbosa es el agente inhibidor de las alfa-glucosidasas más utilizado en la actualidad, ésta ayuda al cuerpo a reducir los niveles de glucosa en sangre por medio de la hidrólisis de almidones. Estructuralmente la acarbosa es un pseudotetrasacárido análogo a la maltotetraosa, y está compuesta por dos partes; primero una estructura de un pseudodisacárido, la acarviosina (valienaminil-4-amino-4,6-dideoxiglucosa), que está unida a la segunda parte, un residuo de maltosa, por un enlace α -1,4 (Wehmeier *et al.*, 2004).

Sulfonilureas

El descubrimiento de las sulfonilureas fue en 1942, por Janbon y colaboradores de la Clínica de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Medicina de Montpellier, quienes la identificaron estudiando la sulfamida RP 2254 (Guthrie *et al.*, 2000; Ramon, 2006).

Las sulfonilureas no parecen corregir el efecto existente en la secreción de insulina precoz que es característico en la diabetes tipo 2, su acción principal consiste en aumentar la fase tardía de secreción de insulina. Además de un aumento en la función de las células β (Shapiro *et al.*, 1989; Van der Wal *et al.*, 1997).

A principios de los 80's se descubrió que la acción de las sulfonilureas se debe a la ocupación de un receptor de la membrana de la célula β , el SUR1. Las sulfonilureas se dividen en dos grupos, la tolbutamida, perteneciente a la primera generación de estos fármacos, muestra una baja afinidad hacia dicho receptor, mientras que la glibenclamida, glipizida y otras sulfonilureas de segunda generación tienen una elevada afinidad. (Ramon, 2006). Se estima que alrededor del 20% de los pacientes muestran una pobre respuesta inicial al tratamiento y se tiene que recurrir a un segundo fármaco o a otra estrategia terapéutica (Mooradian, 1996).

En los primeros meses de tratamiento con sulfonilureas, los niveles plasmáticos de insulina y la respuesta a la glucosa se ve incrementada; por el contrario, en la administración crónica, los niveles de insulina circulante disminuyen, pero los niveles en glucosa plasmática se mantienen.

Las sulfonilureas son ácidos débiles con un volumen de distribución entre 10 y 15 litros. Se unen extensamente a las proteínas plasmáticas (> 90%) y son metabolizadas en el hígado y eliminadas en la orina y las heces. (Ramon, 2006).

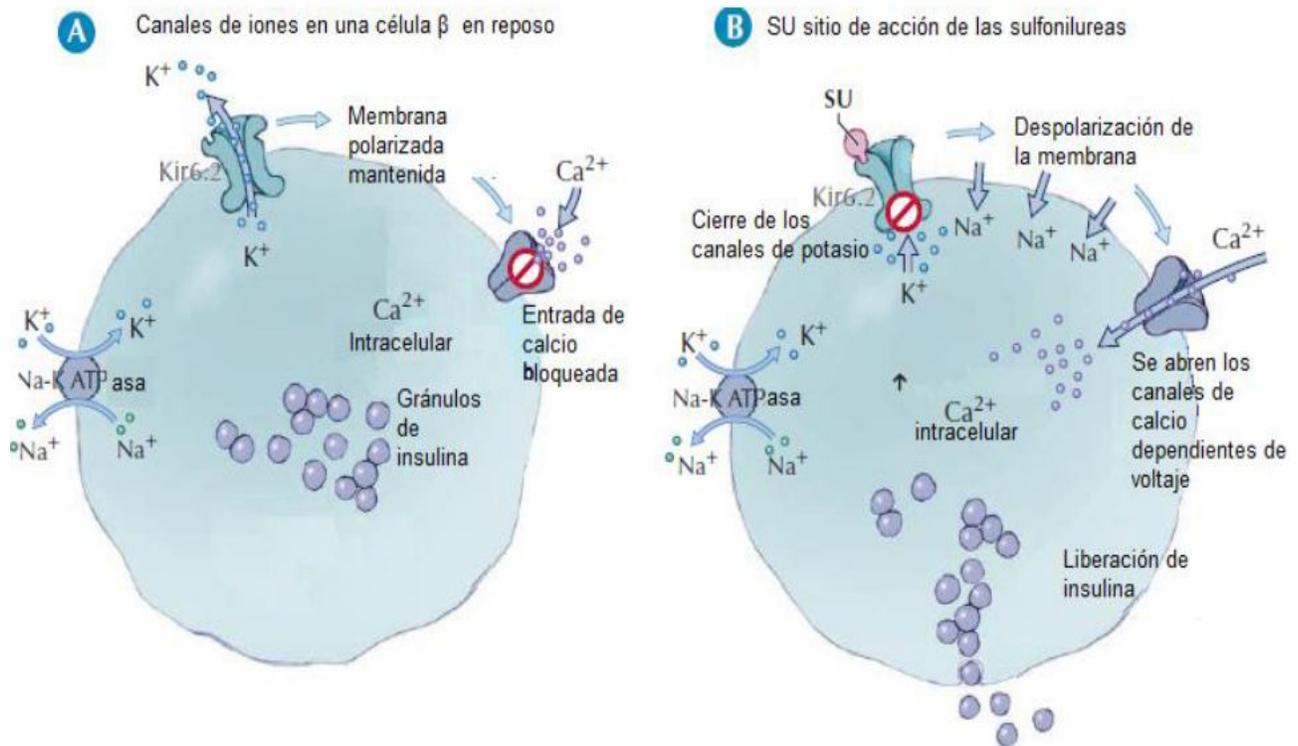
Las sulfonilureas tienen ciertos efectos extrapancreáticos como son:

- a) Inhibición de la insulina
- b) Regulación de proporción de insulina libre/única, mejorando el efecto post-receptor
- c) Aumenta la captación y oxidación de la glucosa por el tejido adiposo
- d) Efecto antilipídico en tejido adiposo
- e) Efecto anticetogénico en el hígado
- f) Alteración de la velocidad de incorporación de aminoácidos a proteínas
- g) Inhibición de la producción y salida de glucosa hepática
- h) Potenciación de la acción de la insulina en el hígado y músculo (aumentan el número de receptores celulares de insulina) (Escalante, 2001).

Mecanismo de acción de las sulfonilureas, canales de K⁺ sensibles a trifosfato de adenosina (K⁺-ATP).

Las sulfonilureas de uso común en el tratamiento de diabetes aumentan la secreción de insulina al cerrar los canales de K⁺ sensibles a γ -ATP, este cierre no supone un cambio en el metabolismo de las células β , es resultado de la interacción directa con la subunidad reguladora del canal SUR-1. Esta interacción provoca una despolarización de la membrana y la apertura de canales de Ca²⁺ sensibles al voltaje, estimulando el flujo de Ca²⁺ y por lo tanto el incremento de su concentración intracelular (Fig. 2).

En general el mecanismo de acción de todas las sulfonilureas es semejante, pero algunas difieren en cuanto a la afinidad que muestran a SUR-1. Los compuestos con mayor afinidad a esta unidad reguladora son la glibenclamida y la tolbutamida. Por lo general la efectividad de las sulfonilureas depende de la presencia de una reserva funcional de células β (Doyle, 2003).



Figur. 2. Representación de los mecanismos por los cuales las sulfonilureas y otros fármacos actúan sobre la secreción de insulina inhibiendo los canales de K⁺ sensibles a ATP^- y estimulando la secreción de insulina. (Tomado de Cheng y Fatus, 2005).

Glibenclamida

Es un agente hipoglucemiante. Es conocida también como glybenciclamida (Fig. 3).

Su función es estimular la liberación de insulina de las células beta del páncreas; aumenta los niveles de esta mediante la reducción de la liberación de la hormona. Incrementa la sensibilidad de los tejidos periféricos a la acción de la insulina y disminuye la glucogenolisis hepática y la gluconeogénesis. Su efecto global es una reducción de la concentración sanguínea de glucosa en pacientes diabéticos cuyo páncreas es capaz de sintetizar insulina.

La glibenclamida es en la actualidad la sulfonilurea más recetada, aunque no por ser más eficaz o segura que otras, la eficacia que presenta en cuanto a la hiperglucemia parece ser no muy diferente a la de otras sulfonilureas, pero es asociada a una tasa grave de efectos secundarios, incluida una duración prolongada de su acción, con una hipoglucemia grave. También se le atribuye una falta relativa de especificidad por los

diferentes canales de K-ATP, disturbios del sistema digestivo, náusea, pirosis, colestasis, funciones hepáticas elevadas, reacciones alérgicas en la piel, eritema, urticaria, raramente puede ocasionar leucopenia, trombocitopenia purpúrea, anemia aplásica, agranulocitos, anemia hemolítica, pancitopenia, fotosensibilidad, parestesias, fatiga, vértigo, mareo, dolor articular, visión borrosa, fluctuaciones de niveles de glucosa sanguínea.

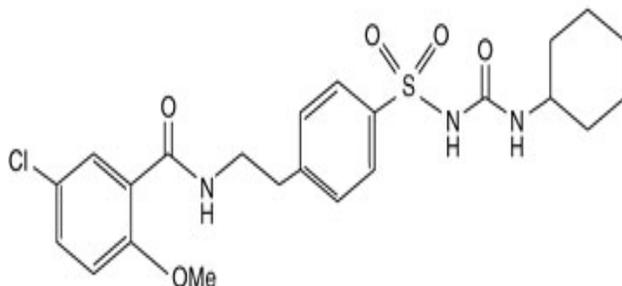


Figura. 3. Estructura química de la Glibenclamida.

En el tratamiento de la diabetes el uso de estos fármacos tienen objetivos específicos, como el aumento de la secreción de insulina, en otros casos se atiende la hipoglucemia hiperinsulinémica. Muchos de los fármacos utilizados ejercen efectos secundarios sobre las células β . En la actualidad no se ha identificado un fármaco capaz de acelerar el metabolismo de la glucosa. Por lo cual es importante realizar evaluaciones sobre los posibles derivados de estos fármacos y compuestos que puedan ser metabolizados en las células β como posibles secretagogos.

Plantas Hipoglucemiantes

El empleo de las plantas medicinales es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante muchos años los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales fueron el principal recurso del cual disponían los curanderos, esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y se ampliara la experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen (Soumyanath, 2006).

Las plantas representan alternativas en el desarrollo de nuevos agentes hipoglucemiantes orales (Hernández, 2002). En México se emplean una gran variedad

de plantas como métodos alternos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. (Garibay *et al.*, 2006).

Información etnobotánica mundial menciona alrededor de 800 plantas con uso hipoglucemiante (Alarcón *et al.*, 1998). Actualmente se conocen numerosas especies con actividad hipoglucemiante, para el caso de México, Andrade-Cetto y Heinrich (2005) documentaron al menos 306 especies de 235 géneros y 93 familias que son usadas como agentes hipoglucemiantes. Entre las familias más mencionadas se encuentran: Asteraceae (47 spp), Fabaceae (27 spp), Cactaceae (16 spp), Solanaceae, Euphorbiaceae (10 spp) y Laminaceae (9 spp). Se estima que esta cifra puede duplicarse, debido a todas las especies que no han sido documentadas por falta de estudios dirigidos, o aquellas que quedan ocultas por ser asociadas a otras patologías pero que se usan para un cuadro clínico de diabetes.

A pesar de los numerosos estudios que se han realizado a nivel nacional y mundial, y de la gran cantidad de compuestos aislados de plantas reportadas en la literatura, en la actualidad sólo se ha obtenido un derivado de plantas medicinales útil como hipoglucemiante: la metformina sintetizada a partir de *Galega officinalis* (Andrade-Cetto, 1999).

Los estudios farmacológicos que se han realizado sobre plantas hipoglucemiantes van de lo más simple a lo más complejo, pero un problema que en general presentan es que en pocos se ha aislado el principio activo, en la mayoría de éstos sólo se comprueba si presenta una actividad hipoglucemiante aguda o no. Por lo tanto, es necesario realizar más estudios interdisciplinarios, haciendo uso de la fitoquímica para determinar el principio activo, de la farmacología para poder encontrar si existe un efecto hipoglucemiante, de la fisiología, sistemática y de otras muchas disciplinas, que permitan hacer un estudio integral que derive en un agente hipoglucemiante de interés médico (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

Etnofarmacología

La Etnofarmacología es un término descrito por primera vez a finales de la década de los 60's, mencionado en el libro de Efron (1967) "Búsqueda de la Etnofarmacología de drogas psicoactivas", adquiriendo de esta manera una importancia científica.

La relevancia de este campo de estudio y los métodos que la acompañan, son fundamentales para el valor que toma esta práctica como ciencia. En 1983 Holmstedt y Brunh definen a la etnofarmacología como “La exploración interdisciplinaria de los agentes biológicamente activos tradicionalmente empleados por el hombre”. Años después Schultes (1991) la define como: “La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional”. Siendo esta la más aceptada en nuestros días, ya que sugiere los aspectos que se deben comprender en un estudio completo.

La identificación y descripción de conocimientos ancestrales es uno de los objetivos principales de la etnofarmacología permitiéndole a nuevas generaciones tener el conocimiento que encierra la ideología e idiosincrasia de los pueblos que los concibieron y los conservaron. (Waller, 1993). Sin embargo; para aquellos que no son depositarios directos de esta tradición, resulta importante este conocimiento por los aportes que puede generar en materia médica (Heinrich, 2008).

A lo largo de la historia todas las culturas y sociedades se han valido de su entorno para desarrollar su propio sistema de atención médica; Basados en el ensayo y error determinaron que grupos de animales, plantas y minerales podían ser utilizados para el tratamiento de sus afecciones más comunes (Becerra-Jiménez, 2005).

Es por medio de la etnofarmacología que este conocimiento empírico debe ser evaluado, para poder detallarlo y documentarlo en términos científicos que permitan el análisis universal del conocimiento local (Heinrich, 2003).

La etnofarmacología es una ciencia interdisciplinaria, ya que no solo abarca la observación en campo, sino también se encarga de la descripción del uso y de los métodos de preparación que envuelven a los remedios tradicionales, así como la determinación botánica.

El trabajo etnofarmacológico se inicia con la selección de una comunidad de estudio para documentar el conocimiento tradicional de las plantas utilizadas en la localidad; después las plantas seleccionadas deben ser determinadas correctamente con ayuda de la taxonomía botánica (Andrade-Cetto, 1999). Esto es fundamental para el trabajo etnofarmacológico, ya que sustenta el valor científico que implica su reproducción en cualquier momento (Andrade-Cetto *et al.*, 2007).

Los análisis fitoquímicos, resultan de gran importancia, pues contribuyen a obtener los componentes principales de la planta, y permiten identificar cuantos y cuales componentes presenta, así como los posibles principios activos. La interpretación de la actividad biológica de los componentes encontrados deberá hacerse desde la perspectiva del uso tradicional de la planta (Holmsted y Brunh, 1983).

A su vez, debe establecerse el modelo farmacológico adecuado para evaluar la actividad y/o propiedades de los compuestos identificados en la planta, ya sea que se analicen de manera aislada o en conjunto con la planta misma (Andrade-Cetto 1999).

En algunos países europeos se tienen fitomedicamentos aprobados y en los cuadros básicos de medicamentos, son alrededor de 100. En México un país con una gran tradición en el uso de plantas medicinales, no existe ninguno propio. Se estima que en México más del 64% de la población hace uso de la medicina tradicional para el tratamiento de muchas enfermedades, entre las que se encuentra la diabetes. Es claro que en México, se necesita realizar estudios para validar el conocimiento tradicional y sentar bases a la producción de nuevos fármacos (Andrade-Cetto 1999).

En la actualidad el papel que desempeña la etnofarmacología es muy importante en las sociedades, ya que permite la reintroducción de los conocimientos de la medicina tradicional como el uso de plantas, con una validación científica, que garantice una utilización de manera correcta, específica y segura de los remedios utilizados en antiguas culturas o en comunidades indígenas actuales (Andrade-Cetto y Heinrich, 2011).

Fitoquímica

La fitoquímica estudia la multitud de compuestos químicos que se encuentran en la complejidad de las células vegetales, pero no solo como entidades químicas, sino también como productos de una serie de mecanismos que intervienen en su biogénesis, como sustancias activas que desempeñan una función en los procesos bioquímicos de las células o bien como elementos que pueden provocar alteraciones fisiológicas en humanos y en animales (Domínguez, 1989).

En términos generales, se ha propuesto denominar a los compuestos secundarios sustancias ecológicamente eficaces, frente a los compuestos primarios que serían sustancias fisiológicamente eficaces (Augner, 1994).

El estudio químico de las plantas proporciona de manera integral conocimiento de algunos de los distintos productos químicos naturales que pueden ser extraídos, separados, purificados y determinados fisicoquímicamente (Domínguez, 1989).

Cromatografía en capa fina

La cromatografía es una técnica utilizada para análisis inorgánico cualitativo, permite llevar a cabo la separación e identificación de componentes de una mezcla, se fundamenta en que las sustancias problema, pueden tener diferentes coeficientes de reparto en dos disolventes de miscibilidad limitada, uno permanece fijo en la superficie del papel la fase estacionaria, la fase móvil constituida generalmente por una mezcla de disolventes parcialmente miscibles en ella.

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares (Braithwaite, A. 1985).

La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa) ya que es más simple. El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor. El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea un método adecuado para fines analíticos (Kenneth A. 2004).

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía es un método físico de separación, basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una estacionaria y otra móvil. En cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna

que contiene a la fase estacionaria. La cromatografía líquida se lleva a cabo en una columna de vidrio. Después se coloca la muestra por la parte superior y se hace fluir la fase móvil a través de la columna por efecto de la gravedad. Para aumentar la eficiencia en las separaciones, en la cromatografía de alta resolución; el tamaño de las partículas de fase fija se disminuye, usando altas presiones para lograr que la fase móvil pueda fluir (Skoog, D. 2001., Hernández, L. 1996).

La cromatografía de líquidos de alta resolución es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada. Las razones son la sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, es ideal para la separación de especies no volátiles o termolábiles y por su gran aplicabilidad a sustancias que son de interés (Harris, D. 200, Hernández, L. 1996, Loro, J.2001, Skoog, D. 2001.).

Modelos animales para diabetes

La investigación etnofarmacológica requiere; además de análisis fitoquímicos, un modelo *in vivo* y/o *in vitro* que permita reproducir de la manera más fidedigna posible, la fisiopatología que pretende atacar mediante fármacos (Becerra-Jiménez, 2007).

La diabetes mellitus (DM) es un problema de etiología múltiple caracterizado por la hiperglucemia producto de deficiencias en el metabolismo de hidratos de carbono. Para tratar de reproducir los complejos aspectos, mecanismos y complicaciones que presenta esta patología se han propuesto una serie de modelos animales experimentales. Los modelos animales en los que se ha estudiado diabetes tipo 2 son aquellos que desarrollan la enfermedad principalmente por una alteración en las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas. Estos modelos permiten entender el mecanismo patógeno de la reducción de las células β , contribuyen a esclarecer si la reducción de células β es clave para el desarrollo de diabetes, también ayudan a evaluar el mecanismo de compensación subsecuente al fallo en las células beta residuales, ofreciendo la oportunidad de evaluar y explorar nuevos tratamientos de diabetes.

Existen biomodelos que desarrollan espontáneamente una hiperglucemia; debido a factores extrínsecos como la dieta y el ambiente; en conjunto con factores intrínsecos

de tipo genético; que algunos animales; principalmente roedores obesos, manifiestan una deficiencia en el manejo de la glucosa y/o la insulina (Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

Otros modelos para el estudio de diabetes mellitus, son aquellos en los cuales las alteraciones fisiológicas se inducen experimentalmente. Dentro de las especies en las cuales se pueden desarrollar animales diabéticos están: las ratas, ratones, cuyos, perros, ovejas y primates, Dentro de estos modelos podemos destacar 5 formas de inducción de la enfermedad por medio de: Lesiones en el hipotálamo, inducción hormonal, farmacológicos, genéticos y manipulación quirúrgica.

Métodos quirúrgicos.

1. La pancreotomía es un procedimiento en el cual se extirpa parcialmente la glándula para producir un incremento de la glucemia.

2. Lesiones en el hipotálamo ventro medial: La administración de electrolitos en esta zona puede causar lesiones que provocan hiperfagia, hiperinsulinemia y obesidad. Tras un periodo inicial de sensibilidad al aumento de la insulina, se desarrolla un estado de resistencia, especialmente a nivel muscular. Cuando se administra en el núcleo paraventral induce hiperfagia, obesidad y, algunas veces intolerancia moderada a la glucosa (Balkan, 1991 y Hugués Hernandorena *et al.*, 2002).

3. Inducción hormonal.

Altas dosis de hormonas como glucagon y glucocorticoides pueden producir hiperglucemia (Stojanovska *et al.*, 1990)

4. Manipulación génica

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

5. Métodos químicos

La administración de estreptozotocina o alloxan, provocan la disminución de la masa de células β del páncreas (Zhao *et al.*, 1999).

El modelo n-STZ es una opción viable para observar una hiperglucemia crónica, condición prevalente en los pacientes con prediabetes o diabetes mellitus tipo 2 en una etapa temprana, por estas razones además de que resulta relativamente económico, se

ha convertido en una de las principales alternativas para el estudio de la diabetes mellitus.

MODELO N-STZ

La estreptozotocina es una droga antineoplásica alquilante conocida como alquilnitrosurea. (Hernández-Montiel *et al*, 2003). Es un antibiótico aislado de *Streptomyces achromogenes*. La estreptozotocina es una molécula de 2-deoximetilnitroglicopiranososa que produce un efecto tóxico selectivo en las células β e induce diabetes mellitus en animales de laboratorio (Arulmozhi *et al.*, 2004) (Fig. 4).

La estreptozotocina en solución es una mezcla de dos anómeros, alfa, y beta los cuales alcanzan el equilibrio en la solución a las dos horas de haber preparado esta y de almacenarse en condiciones de oscuridad. (Andrade- Cetto, 1999).

El primer reporte de la estreptozotocina como agente de diabetes fue dado por Nathan, (1963). En un estudio llevado a cabo en ratas y perros Beagle reporta el efecto diabético. (Andrade- Cetto, 1999)

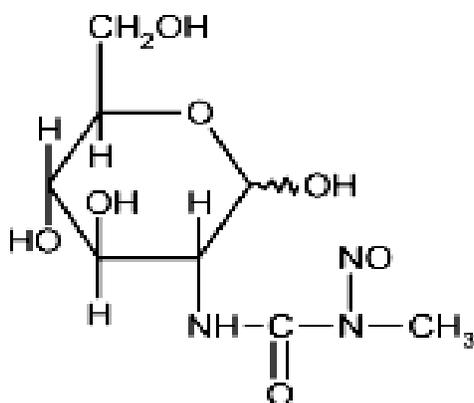


Figura 4. Molécula de estreptozotocina

El mecanismo de toxicidad de la estreptozotocina (STZ), hasta hace algunos años permanecía en constante discusión, Arulmozhi *et al.*, (2004) propone que el sitio de acción es el DNA nuclear por medio de radicales libres que atacan el núcleo de la célula β . Durante la descomposición de la estreptozotocina se forman iones carbono altamente reactivos, lo cual causa una alquilación de las bases del DNA (LeDoux, *et al*, 1986). La STZ es responsable de un decremento en la disponibilidad de NAD, lo que

interrumpe los procesos enzimáticos de las células β y provoca su muerte (Okamoto, 1981; Arulmozhi *et al.*, 2004). En 2012, Skudelzky reporta en números estudios *in vitro*, la acción citotóxica de la STZ, esta causa alquilación del DNA resultando en la fragmentación de DNA en las células β .

Las ratas neonatas tratadas con estreptozotocina (n-STZ) muestran una diabetes aguda con deficiencia de insulina después de 3-5 días de nacidas. Esto fue confirmado según los siguientes criterios: la glucosa en plasma es alta (345 ± 37 mg/dl), la insulina pancreática muestra un decremento del 93%; la insulina en plasma es baja considerando los altos niveles de glucosa, el glucagon en plasma es alto a pesar de no haber cambio en el contenido de glucagon pancreático. Las crías sobrevivientes fueron mantenidas fácilmente y en total hubo una mortalidad menor al 30% (Portha *et al.*, 1979).

La marcada hiperglucemia observada en ratas neonatas tratadas con estreptozotocina es sólo pasajera. Esto puede explicar porque algunos autores reportaron que las ratas neonatas fueron resistentes a la estreptozotocina. Al final de la primera semana, la glucosa en plasma y los valores de insulina no fueron significativamente diferentes a los controles.

Después de tres a cuatro semanas de edad, el peso corporal y los valores de glucosa basal en plasma en las ratas n-STZ no se distinguen de los valores en ratas control. Sin embargo, después de ocho semanas de edad las ratas n-STZ muestran una ligera hiperglucemia (150- 180 mg/dl), una respuesta anormal a las pruebas de tolerancia a glucosa y un 50% de decremento en la insulina pancreática y sin ningún cambio en el glucagon almacenado en páncreas (Portha *et al.*, 1979).

Una variante de este modelo se reporto por Bonnier-Weir and Weir (Bonnier-Weir, *et al.*, 1981; Weir *et al.*, 1981), en ésta se utilizan ratas Sprague Dawley inyectadas al segundo día de nacidas con 90 mg/kg de estreptozotocina (n_2 -STZ), al paso de seis semanas de edad los individuos muestran una hiperglucemia basal mayor a 200mg/dl y una tolerancia anormal a la glucosa, a sí como una ligera hipoinsulinemia.

En vista de esta heterogeneidad en el modelo, se compararon ratas Wistar con diabetes inducida con estreptozotocina al segundo y al quinto día después de nacer.

Como consecuencia se obtuvieron tres modelos de diabetes no insulino dependientes: n_0 -STZ, n_2 -STZ y n_5 -STZ (Bonner-Weir, *et al.*, 1981).

El modelo n_0 -STZ y el n_2 -STZ, presenta características similares. En ambos modelos se mostró una hiperglucemia basal con intolerancia a la glucosa, aumento en la hemoglobina glucosilada, una importante reducción en la insulina pancreática, un decremento del 50% en la insulina en plasma y una reducción de insulina pancreática (Arulmozhi *et al.*, 2004).

Las ratas n_5 -STZ mostraron la carencia de nueva acumulación significativa de insulina en el páncreas a las 2 semanas, después de la acción sobre las células β (Becerra-Jimenez, 2008).

Ha sido demostrado que existe alguna capacidad de regeneración de célula beta en el páncreas de rata neonatal, que no existe en los roedores adultos (Arulmozhi *et al.*, 2004).

Las ratas n-STZ adultas se caracterizan por la baja liberación de insulina en respuesta a glucosa (Portha *et al.*, 1979), porque el número de células β (almacenes de insulina en el páncreas) de estas ratas diabéticas es bajo. La secreción defectuosa de insulina observada *in vivo* puede ser atribuida a estas anomalías cuantitativas de los islotes de Langerhans. Además, se encuentran las alteraciones de las células β responsables de la mediación del estímulo y la variación de acuerdo a la naturaleza del estímulo (Portha *et al.*, 1979).

ANTECEDENTES DE LA PLANTA

Smilax moranensis (Cocolmeca)

Ubicación taxonómica

Reino: Plantae

División: magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Liliales

Familia: Smilacaceae

Género: *Smilax*

Especie: ***Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti.**

Sinonimias

S. invenusta Kunth, *S. invenusta* var. *armata* A. DC., *S. moranensis schaffneriana* A. DC., *S. invenusta armata*, *S. moranensis mexiae* Killip & C.V. Morton, *S. moranensis hispida*, *S. chaffneriana*, *S. botterii* A. DC., *S. cordifolia* var. *papantlae* DC., *S. cordifolia* var. *schiedeana* DC., *S. densiflora* A. DC., *S. densiflora* var. *chrismarensis* A. DC., *S. erythrocarpa* Kunth, *S. glaucocarpus* Schltdl, *S. jalapensis* Schltdl, *S. jalapensis* var. *botterii* (A. DC.) Killip & C.V. Morton, *S. moranensis botterii*, *S. schiedeana*, *S. sylvatica*, *S. acutifolia*, *S. uruapensis* Sesse & Moc.

Nombre (s) común (es):

Itamoreal, palo de vida, sarsaparilla, sarsaparrilla blanca, sierrita, tipa tsinari (Purépecha), Uarhokutaraku sapichu (Purépecha), Zarzaparrilla blanca Cocolmeca, Cozolmecatl, Kok-che, Olcaczatlan, Tecquammitl, Raíz china, Taca.

Descripción

***Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti.**

Bejuco leñoso, llega a trepar hasta 10 m o más de altura, presenta aguijones agudos, rectos en la parte baja. Las hojas 4 veces más largas que anchas (3.5-12 x 1.5-7 cm, 1.6-4), ovadas y ampliamente lanceoladas, membranáceas o cartáceas, inermes, las nervaduras secundarias conspicuas, a menudo blanquecinas, reticuladas y algo prominentes en el envés, el ápice agudo, la base cuspidada, truncada o ligeramente cordada, el margen diminutamente denticulado. Umbelas estaminadas solitarias; pedúnculo (1-2.5 cm) más largo que el pecíolo subyacente. Umbelas pistiladas solitarias; pedúnculo (0.5-1.5 cm), aplanado. Las flores son verdes, amarillo pálido o verde amarillento. Los tépalos de las flores estaminadas (4-6 mm); filamentos (2-4 mm); anteras (2 mm). Tépalos de las flores pistiladas (3-5 mm). Los frutos son redondos (6 a 7 mm) de color negro cuando maduran (Colección MEXU/Plantas Vasculares, 2012).

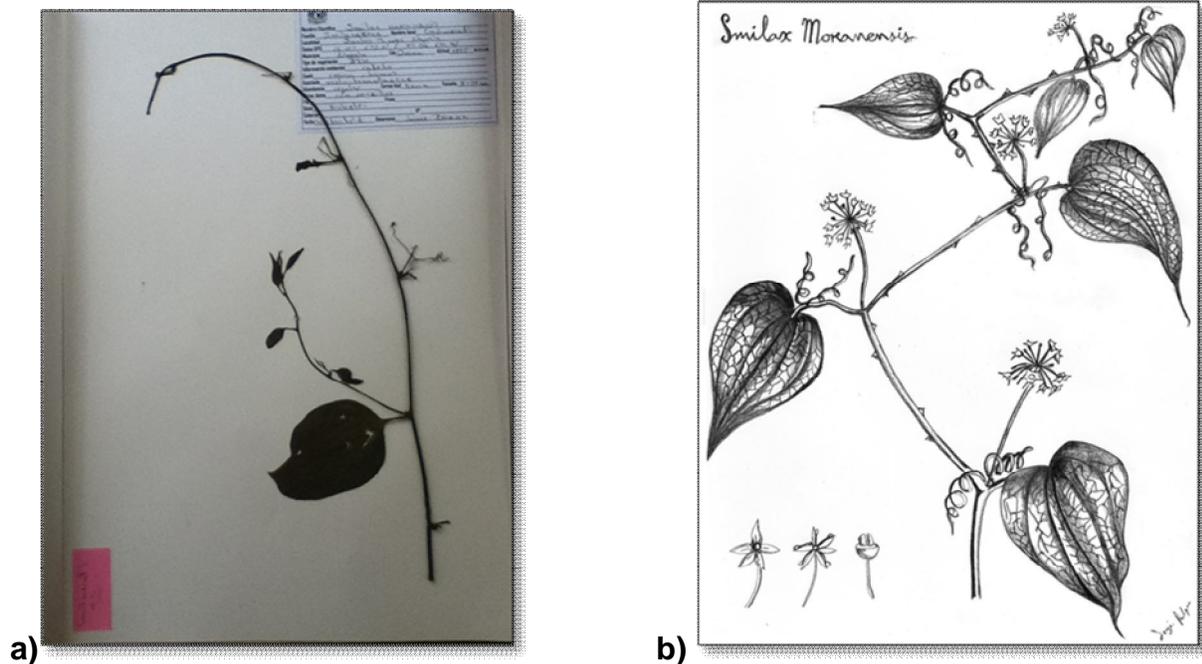


Figura. 5. a) Ejemplar de herbario Laboratorio de Etnofarmacología, Facultad de Ciencias UNAM. b) Esquema de *Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti.



Figura. 6. Esquema de *Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti.

Distribución

Originaria de México; Se distribuye a lo largo de la República (Fig.7). Habita en climas cálido, semicálido y templado, entre los 600 y los 1900 msnm. Asociado a bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña y bosques de pino-encino.

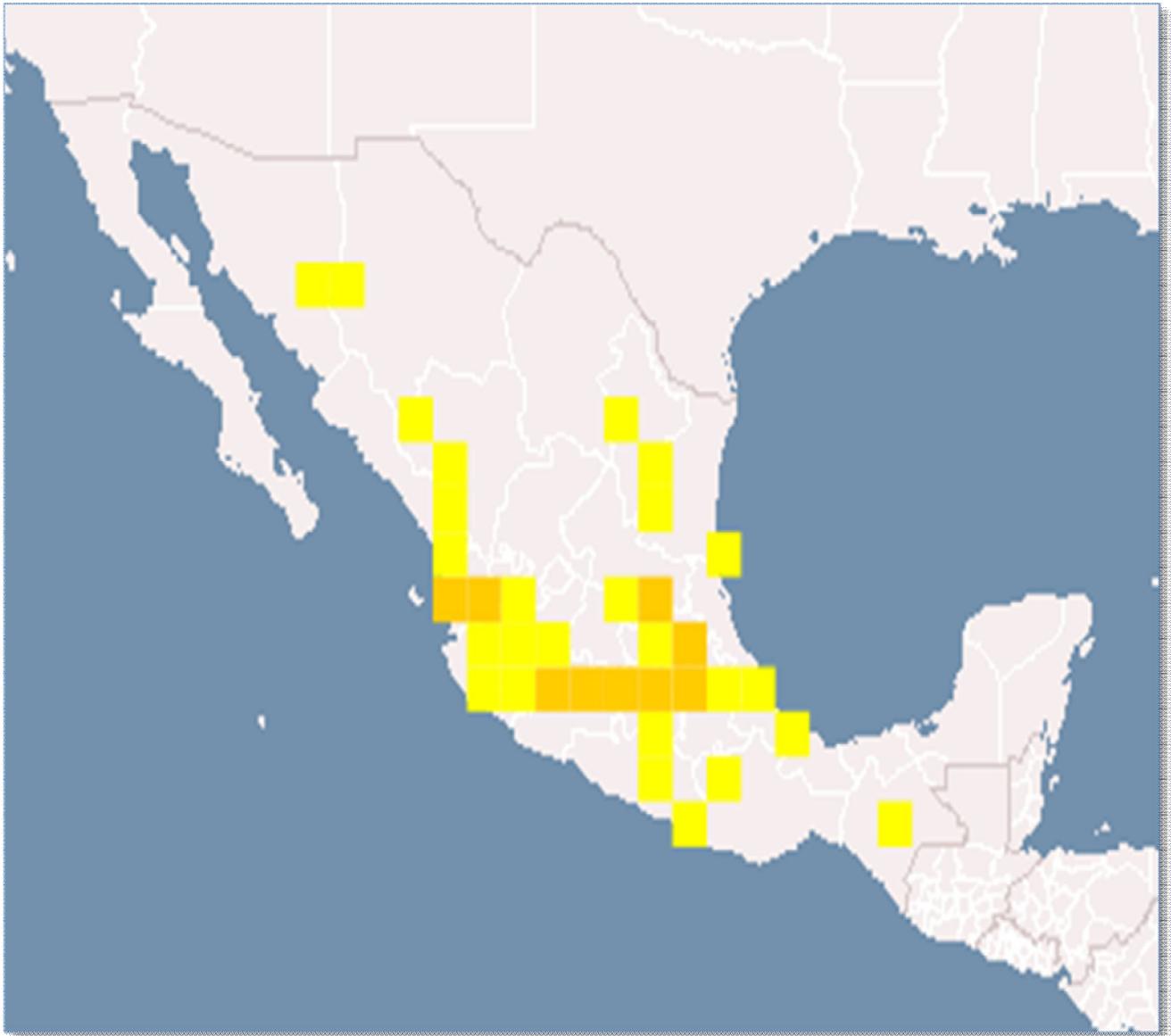


Figura. 7. Distribución de *S. moranensis* (Global Biodiversity Information Facility, 2012).

Antecedentes etnobotánicos

Hernández (1959), la reporta con el nombre en náhuatl de cozomecatl, olcacatzan y las engloba bajo el nombre genérico de chinás; De la Cruz- Badiano como Tecquamaitl; Martínez bajo el nombre de cocolmea, cocolmecan cozomecatl y kok-che en maya (De la Cruz, 1964; Martínez, 1944).

En el siglo XVI, Martín de la Cruz la reporta como antiescabiático, y Francisco Hernández como antiespasmódico, antipirético, antirreumático, antisifilítico, astringente, carminativo, contra la contracción de rodilla, dermatosis; como diaforético, diurético; contra enfermedades de causa cálida, enfermedades de causa fría; aumenta el calor del estómago, es hipnótico, tónico; lava las vías urinarias y es analgésico, tomada con vino tonifica y ayuda a la digestión (Hernández, 1959; Argueta, 1994).

Para el siglo XX, Maximino Martínez describe; "adelgaza", es afrodisíaco, antídoto, para contusiones y diurético. Se emplea la raíz en decocción y se administra por vía oral (Martínez, 1944) Fig.8.

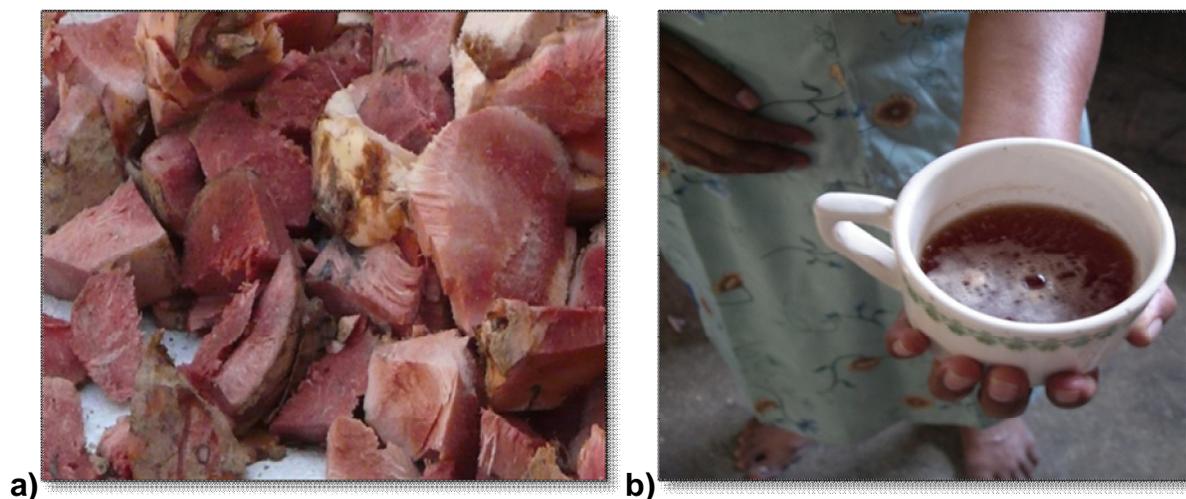


Figura. 8. a) Trozos de raíz de *S. moranensis*; b) infusión preparada con la raíz.

Antecedentes fitoquímicos

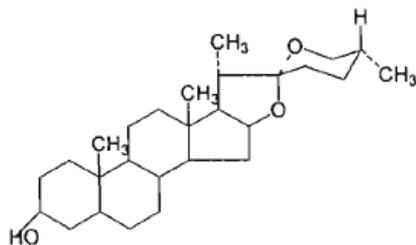
Cirilo-Aguilar en el 2003, reportó diferentes tipos de extractos (Hexánico, acetónico, metanólico, acuosos) para la caracterización fitoquímica de *S. moranensis*.

En el extracto hexánico se encontraron: esteroides, terpenos, coumarinas, alcaloides, azúcares. Dentro de los extractos acetónico y etanólico se encontraron: esteroides, terpenos, coumarinas, sesquiterpenlactonas, flavonoides, alcaloides, azúcares, quinonas y saponinas.

En el extracto acuoso se encontraron: oxidrilos fenólicos, coumarinas, sesquiterpenlactonas y quinonas.

Dentro de los resultados presentes en las pruebas fitoquímicas de *S. moranensis*, se observan compuestos semejantes a los reportados por diversos autores en otros ejemplares del mismo género (Chen T. *et al.*, 1999, reporta una nueva flavona).

En la literatura podemos encontrar que las sapogeninas esteroides como uno de los componentes en las plantas del género *Smilax*, dentro de las cuales se encuentra la esmilagenina. De las saponinas por medio de hidrólisis se obtienen hidratos de carbono y una aglicona, llamada genéricamente sapogenina, la cual puede tener un esqueleto esteroideal similar al de la esmilagenina (Domínguez, 1989).



Esmilagenina

Figura. 9. Estructura química de la esmilagenina

Las sapogeninas no se encuentran de forma libre en los rizomas; las podemos encontrar en forma de glicósidos, es decir, la sapogenina unida a una azúcar, lo que se conoce como saponina o glucósido esteroide. Debido al gran peso moléculas de las saponinas, su aislamiento en estado puro ofrece grandes dificultades. Según la estructura de la sapogenina, se conocen dos grupos de ellas; los de tipo esteroide

(generalmente triterpenoides tetracíclicos) y los triterpenoides pentacíclicos, ambos tiene un origen biogenético en común, la vía del ácido mevalónico y unidades isoprenoides (George E., 1988).

Las sapogeninas se encuentran entre el 1-3 % de base seca en los rizomas de diversas especies del género *Smilax*.

Entre los compuestos que obtenemos de la hidrólisis de las saponinas podemos encontrar tres compuestos de mayor interés:

1. Sarsasapogenina
2. Esmilagenina
3. Diosgenina

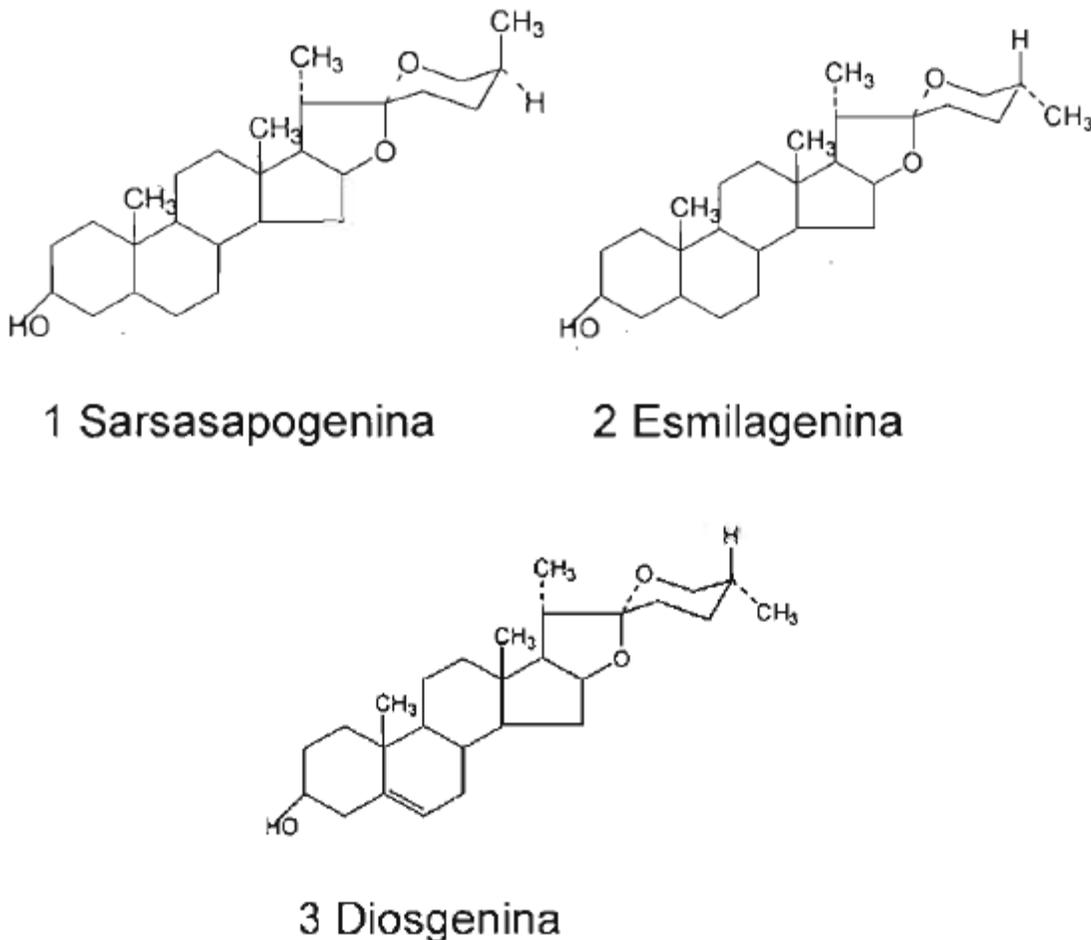


Fig. 10. Estructura química de algunas saponinas

Antecedentes farmacológicos

Fukunaga *et al.*, (1997) estudió el efecto hipoglucémico de *Smilax glabra* en 3 modelos de ratones (normales, diabetes mellitus no dependientes de insulina, diabetes mellitus dependiente de insulina en este estudio, una dosis de 100 mg/kg de extracto metanólico de *Smilax*, modifica los niveles de glucosa a las 4 horas de su administración en los modelos, normal y ratón Kuo Kando o ratón obeso (KK-Ay) bajo las mismas condiciones, en el modelo inducido por streptozotocina no se observó variación en los niveles de glucosa en sangre.

La administración repetida de extractos hidroalcohólicos del género *Smilax* mostró una tendencia hipoglucemiante al compararse con los controles. *Smilax engleriana* mostró efecto residual en ratones machos y hembras, mientras que el extracto de *Smilax kunthii* lo mostró sólo en machos. *Smilax panamensis* y *Smilax domingensis* CR, solamente en hembras. Se observó un posible efecto ansiolítico con *Smilax domingensis* CR y *Smilax kunthii*, el efecto se manifestó solamente durante el período residual (una semana después de haber suspendido el tratamiento) (García-Gonzales *et al.*, 2008).

Cirilo-Aguilar (2003), reporta a *S. moranensis* como agente reductor de peso. Las pruebas se realizaron en cuatro grupos de ratas Sprague-Dawley, tres machos y tres hembras; en tres repeticiones con diferentes dosis de extracto (16, 32 y 64 mg/kg). La primera etapa consta de la administración de *S. moranensis*. Para la segunda repetición se administró *Centaurium quítense* y la tercer repetición consta de una mezcla de ambas plantas.

Los resultados demuestran, que una dosis de 32 mg/kg de *S. moranensis* (administrada a machos), representa una menor ganancia de peso con respecto a los demás tratamientos y dosis tanto en machos como en hembras. Sin embargo el efecto sinérgico de ambas plantas representó el valor de pérdida de peso más significativo con respecto a los controles (Cirilo-Aguilar, 2003). Es importante considerar que si la sinergia es más eficiente entonces se debe tomar una para una posible promoción en el cuidado de la salud como control parcial al peso, falta verificar si la acción crónica no genera efectos hepatotóxicos.

Se tiene reportes de actividad tanto bactericida y fungicida del género *Smilax* (Cáceres *et al.*, 1990; Fernandes *et al.*, 1999).

Navarro y colaboradores (2003), demuestran que los extractos; etanólico y acuoso de *Smilax spinosa*, presentan un efecto sobre *Salmonella typhi* y *Leishmania mexicana*, así como antioxidante.

Cirilo-Aguilar (2003), comprobó que las propiedades químicas de los extractos hexánico y acetónico de *S. moranensis*, presentan actividad antibacterial sobre *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

El mismo grupo de trabajo reportó la actividad antifúngica de *S. moranensis*, sobre *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* (Cirilo-Aguilar, 2003).

JUSTIFICACIÓN

El uso tradicional de la raíz de *S. moranensis*, ha sido documentado en la comunidad de Santos Reyes Nopala en el estado de Oaxaca, México; por el grupo de trabajo del Laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias. Los reportes de su uso fueron obtenidos por medio de entrevistas directas, realizadas a habitantes de la zona con diabetes y que frecuentan el uso de plantas; debido a esto se decidió probar el efecto hipoglucemiante agudo de la raíz en un modelo de diabetes inducida (n₅-STZ).

HIPÓTESIS

* Tanto el extracto acuoso como el etanol-agua de *S. moranensis* administrado en una dosis de 20 mg/kg, tendrá un efecto hipoglucemiante agudo con grado dosis dependiente en ratas diabéticas.

* Tanto el extracto acuoso como el etanol-agua de *S. moranensis* administrado en una dosis de 200 mg/kg, tendrá un efecto hipoglucemiante agudo con grado dosis dependiente en ratas diabéticas.

OBJETIVO

General

* Evaluar el efecto hipoglucemiante agudo de *S. moranensis* en ratas neonatas diabéticas inducidas por estreptozotocina (n₅-STZ).

Particulares

* Determinar el efecto de extractos acuoso y etanol-agua de la raíz de *S. moranensis* en el modelo de ratas diabéticas n₅-STZ.

* Detectar por medio de cromatografía de placa fina los diferentes grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos acuosos y etanólico de la raíz de *S. moranensis*.

METODOLOGÍA GENERAL

Colecta del *S. moranensis*

El material botánico fue colectado por el Dr. Adolfo Andrade-Cetto y su grupo de trabajo del laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias UNAM en la comunidad de Santos Reyes Nopala estado de Oaxaca, México. La raíz de la planta fue colectada en su hábitat natural en el año 2007 y 2009, con ayuda de personas y curanderos de la localidad.

La planta fue determinada por el M. en C. Ramiro Cruz-Duran del Departamento de Biología Comparada de la Facultad de Ciencias, los especímenes fueron depositados en el herbario con número de colecta IMSS 15815.

La raíz de *S. moranensis* fue colocada en la cámara de secado del laboratorio de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias de la UNAM, a una temperatura de 40°C por 48 horas.

Elaboración de extractos de *S. moranensis*

Extracto acuoso. Se preparó a partir de 100 g de raíz molida en 500 ml de agua destilada, se mantuvo hirviendo en agitación por 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se filtró por medio de una malla fina de nylon, posteriormente se realizó un segundo filtrado usando tierra de diatomeas y vacío. La parte líquida se congeló a -40°C en un ultracongelador marca Revco y posteriormente se colocó en una liofilizadora marca Labconco modelo Freezone 2.5.

Extracto Etanol-Agua. Se elaboró a partir de 100g de raíz molida en 500 ml de una solución etanol: agua en una proporción 1:1, se mantuvo en agitación por 2 horas a una temperatura de 30°C, se dejó precipitar por espacio de 2 horas y se separó la parte líquida por filtración con tierra de diatomeas y vacío. Posteriormente se eliminó el etanol en un rotavapor (Büchi modelo R-205) y se colocó en cristalizadores a -40°C en un ultracongelador (Revco) y se liofilizó.

Extractos adicionales

Para las pruebas fotoquímicas se utilizaron los extractos acuoso y etanol-agua, también se realizaron extractos adicionales: etanol-acetona, hexánico y metanólico de la raíz de

S.moranensis para detectar que tipo de metabolitos están presentes y si estos pueden estar asociados con el efecto reportado.

- Extracto etanol-acetona. 1g de raíz molida en 20 ml de la solución en proporción 1:1.
- Extracto hexánico. Se colocó de raíz molida en un cartucho para soxhlet, el hexano se eliminó por medio de rotavapor
- Extracto metanólico, este se prepara con la misma raíz que se utilizó en el extracto hexánico; el metanol se eliminó por evaporación.

Animales experimentales

Se utilizaron ratas Wistar (ambos sexos) de 5 días de nacidas, obtenidas del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

Se mantuvieron bajo el cuidado de la madre hasta los 30 días de edad, después fueron destetadas. Las ratas permanecieron en una sala dentro del bioterio a una temperatura de 25 °C con 55 % de humedad relativa, bajo un fotoperíodo 12:12 luz: oscuridad. Las ratas tuvieron acceso al alimento (Purina Ralston) y el agua durante todo el experimento, a excepción de los días en los cuales se trabajaron con ellas, ya que requieren un ayuno previo de aproximadamente 8 horas.

Inducción de diabetes n₅-STZ.

Las ratas neonatas fueron inyectadas al quinto día post- nacimiento, vía intraperitoneal con 90 mg/Kg de estreptozotocina (STZ), disuelta en 20 ml de buffer de acetatos pH 4.5. Los animales que sobrevivieron a la inyección permanecieron con la madre hasta los 30 días de edad, posteriormente fueron destetados y colocados en cajas separadas. Se monitoreados sus niveles de glucosa plasmática a los dos meses de edad.

Aquellas ratas que presentaron valores mayores o iguales a 140 mg/dl de glucosa plasmática después de 8 horas de ayuno fueron consideradas diabéticas, valores menores o iguales a 139 mg/dl de glucosa no se incluyeron en el experimento.

Medición de glucosa.

La sangre fue colectada de la vena caudal realizando un pequeño corte en la punta de la cola tratando de no alterar al animal. Todos los valores de glucemia se determinaron por medio de dos glucómetros Accutrend GC (Roche), utilizando sus respectivas tiras reactivas.

Dosis del hipoglucemiante oral

Se utilizaron hipoglucemiantes orales estándar, glibenclamida y metformina. Las dosis de glibenclamida administradas; que es de 5mg/kg, de acuerdo a los cuadros de aplicación clínica la dosis mínima en un día a un paciente es de 5 mg/kg, se ha comprobado en estudios previos en el laboratorio de etnofarmacología, que presenta valores significativos a los tiempos de 120 y 180 min. (Ramírez, 2007 y ALAD, 2010). Para la metformina se utilizó una dosis de 12 mg/kg.

Dosis de planta hipoglucemiante

Las dosis se calcularon de acuerdo a los reportes del uso de la planta tomada por un humano de 70 kg, y se extrapolaron a una rata experimental de 250g (cuadros 1 y 2). Se calculó la dosis correspondiente para cada rata experimental, los extractos, se resuspendieron en 1.5 ml de solución fisiológica (solución de NaCl 0.9%) en el caso del acuoso y para el etanol-agua se resuspendió en 1 ml de solución fisiológica y 0.5 ml de etanol. En ambos casos; para obtener una comparación del efecto hipoglucemiante, se elevó la dosis 10 veces con respecto a la dosis calculada.

Cuadro 1. Cálculo de la dosis para el extracto acuoso de *S. moranensis*.

PESO kg	DOSIS g
70	1.5
0.25	0.0053
	Dosis calculada
	0.02 g/kg
	Dosis administrada
	0.02 g/kg, 0.2 g/kg

Cuadro 2. Cálculo de la dosis para el extracto etanol-agua de *S. moranensis*.

PESO kg	DOSIS g
70	2
0.25	0.0071
	Dosis calculada
	0.028 g/kg
	Dosis administrada
	0.028 g/kg, 0.28g/kg

DISEÑO EXPERIMENTAL

Grupos experimentales

Las ratas fueron separadas en 8 grupos de 11 individuos cada uno (4 controles y 4 experimentales), conforme al tratamiento que recibían. Los tratamientos se muestran en la Cuadro3.

Cuadro 3. Grupos experimentales y tratamiento.

GRUPO	TRATAMIENTO
Grupo 1. Control no diabético (CND)	Solución fisiológica (salina) 9%
Grupo 2. Diabético (CD)	Solución fisiológica (salina) 9%
Grupo 3. Diabético+ Glibenclamida	Glibenclamida 5 mg/kg
Grupo 4. Diabético+ Metformina	Metformina 12 mg/Kg
Grupo 5. Diabético+ <i>S. moranensis</i>	Extracto acuoso de <i>S. moranensis</i> 20mg/kg
Grupo 6. Diabético+ <i>S. moranensis</i>	Extracto acuoso de <i>S. moranensis</i> 200mg/kg
Grupo 7. Diabético+ <i>S. moranensis</i>	Extracto etanol-agua de <i>S. moranensis</i> 28mg/kg
Grupo 8. Diabético+ <i>S. moranensis</i>	Extracto etanol-agua de <i>S. moranensis</i> 280mg/kg

La solución fisiológica y los extractos fueron administrados a las ratas por vía oral con la ayuda de una cánula gastroesofágica con la finalidad de asegurar que las aplicaciones llegaran directo al tracto digestivo.

Los niveles de glucosa sanguínea fueron determinados; tanto en los grupos experimentales como en los controles, tomando el primer valor (T0) como la media previa a la administración de cualquier tratamiento. Posterior a la administración del tratamiento se realizaron mediciones cada hora (T60, T120 y T180).

Cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en ingles)

La cromatografía de capa fina fue realizada para los extractos (acuoso, etanol-agua, etanol-acetona, metanólico y hexánico) de *S. moranensis*. En el cuadro 4 se muestran los tres sistemas de elución que se prepararon de acuerdo al tipo de metabolitos secundarios a identificar.

La cromatografía de capa fina se realizó en el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias UNAM. Se procesaron 5 extractos, se pesaron 20mg de cada extracto y se disolvieron en 0.1ml de metanol para su análisis, en el caso de el hexánico se diluyo en 0.1 de hexano.

Cuadro 4. Sistema de elusión y revelado de la cromatografía de placa fina

Metabolitos secundarios	Control	Sistema de elusión	Revelador
Flavonoides glicólicos	Rutina	-Acetato de etilo -Ácido Formico -Ácido Acético Gacial -agua (6:1:1:2)	Ac. Difenilbourínico al 1%,(0.5g/50ml de metanol) + UV
Flavonoides aglicólicos	Quercitina	-Diclometano -acetona -ácido acético -metanol (6:2:1:1)	Ac. Difenilbourínico al 1%,(0.5g/50ml de metanol) + UV
Terpenos	Timol	-Hexano -Acetato de etilo (7:3)	-Anisaldehído -Ácido sulfúrico -Ácido acético glaciar Calor 5-10 min.

Alcaloides	Quinina	-Diclorometano -metanol -hidroxido de amonio al 25 % (85:14:1)	-Solución 1: 0.85 g de nitrato de bismuto básico en 40 ml de agua y 10ml de ácido acético al 99%. -Solución 2: 8 g de ioduro de potasio en 20 ml de agua.
------------	---------	--	---

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en ingles)

Se utilizó la cromatografía de alta resolución para la identificación de la cantidad y número de los compuestos presentes en los extractos de *S. moranensis*.

Las condiciones que presentó el sistema fueron las siguientes (Andrade-Cetto, 2011):

- **Columna:** NUCLEOSIL 100-5-C18, EC-250-4.
- **Fase móvil:** Acetonitril-15: Metanol-15: Buffer Ácido Fosfórico-70.
- **Detector:** Luz UV 254 nm.
- **Tiempo:** 25 min.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prueba estadística que se realizó a los datos fue un ANOVA de una vía, partiendo del supuesto de poblaciones distribuidas normalmente con varianza igual y desconocida, y observaciones independientes. Asimismo se realizó una prueba de Dunett para verificar que existan diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los tratamientos. Para comprobar diferencias entre cada grupo con respecto su propio tiempo cero se aplicó un Post hoc de Tukey. El análisis se realizó en JMP Statistical SAS 10, los datos se consideran significativos a partir de $P < 0.05$.

RESULTADOS

Del extracto acuoso ya liofilizado de *S. moranensis* se obtuvo 1.51g de peso seco final, Para el extracto Etanol-agua se obtuvieron 2.84g de peso seco final.

Pruebas farmacológicas

De los 8 grupos de 11 ratas experimentales se obtuvieron los valores medios para cada una de las aplicaciones de los distintos tratamientos administrados durante tres horas en forma aguda (Cuadro 5).

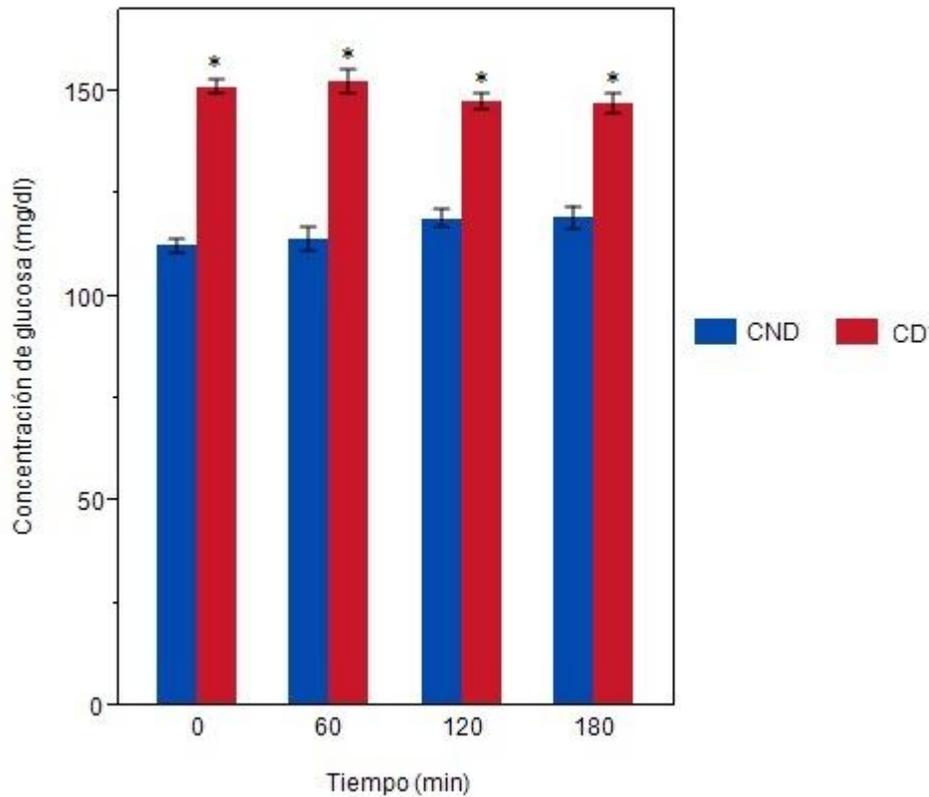
Cuadro 5. Efecto hipoglucemiante de *S. moranensis* en ratas n₅-STZ.

Grupos Tiempo (minutos)	Niveles de Glucosa Sanguínea (mg/dl) +/- error estándar			
	T0	T60	T120	T180
1. CND	112 ± 2	114 ± 3	119 ± 2	119 ± 3
2. CD	151 ± 2	152 ± 3	148 ± 2	147.5 ± 2
3. Glibenclamida (5 mg/kg)	152 ± 5	137 ± 6	129 ± 5 ^{a*}	121 ± 5 ^{b**}
4. Metformina (12mg/kg)	152 ± 3	133 ± 3 ^b	136 ± 4 ^a	125 ± 3 ^{b**}
5. <i>S. moranensis</i> acuoso (20 mg/kg)	147 ± 4	141 ± 8	130 ± 5 [*]	128 ± 4 [*]
6. <i>S. moranensis</i> acuoso (200 mg/kg)	148 ± 5	127 ± 7 ^{a**}	123 ± 6 ^{a**}	128 ± 7 ^{a*}
7. <i>S. moranensis</i> etanol-agua (28 mg/kg)	149 ± 5	139 ± 5	131 ± 5 ^{a*}	133 ± 6
8. <i>S. moranensis</i> etanol-agua (280 mg/kg)	151 ± 4	143 ± 4	138 ± 5 ^a	135 ± 5 ^b

Valores promedio de glucosa ± error estándar. * p<0.05, ** p<=0.005, significativo para cada tratamiento vs CD, a. p<0.05, b. p<=0.005, significativo para cada tratamiento vs su tiempo cero. n=11.

De acuerdo con los datos obtenidos en la tabla 5:

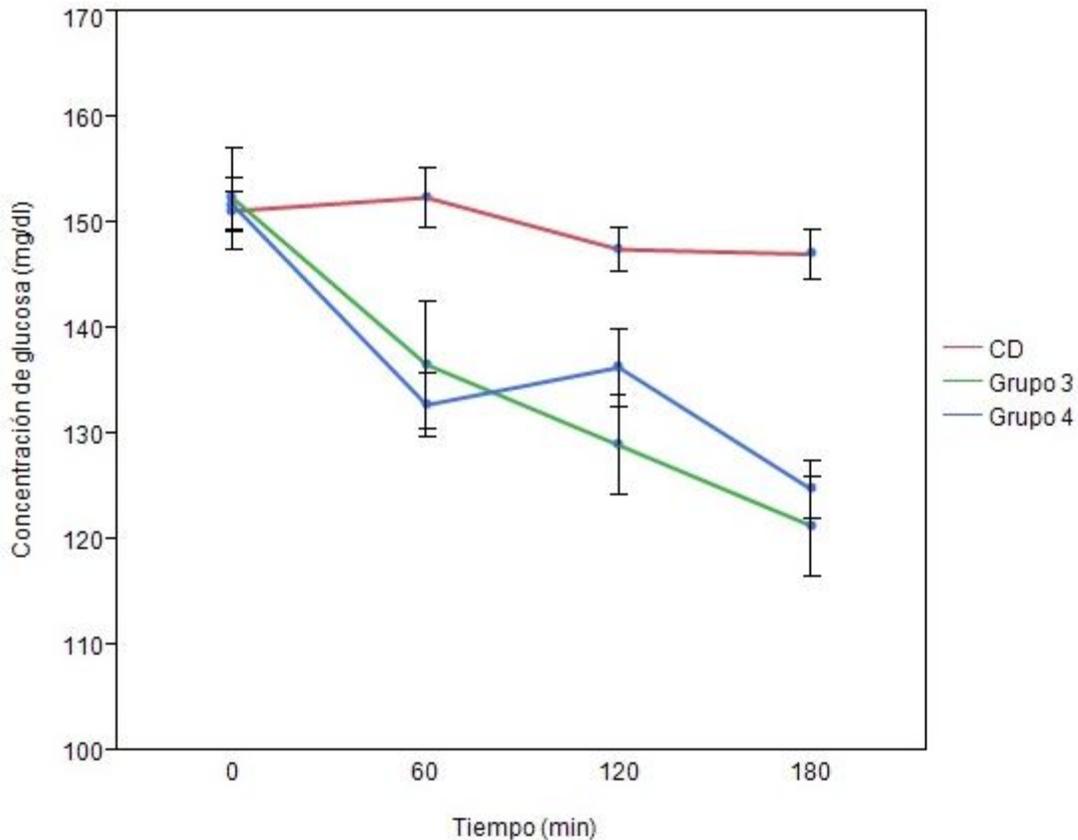
Grupo 2: Se observan diferencias significativas de los valores de glucosa sanguínea con respecto al CND (grafica 1).



Gráfica 1. Comparación entre los niveles de glucosa CND vs CD. n=11,* P=< 0.005

Grupo 3: Los valores de glucosa son significativos a partir del minuto 120 y se mantiene en el tiempo 180, al ser comparados contra el CD y su propio T0 (Grafica 2).

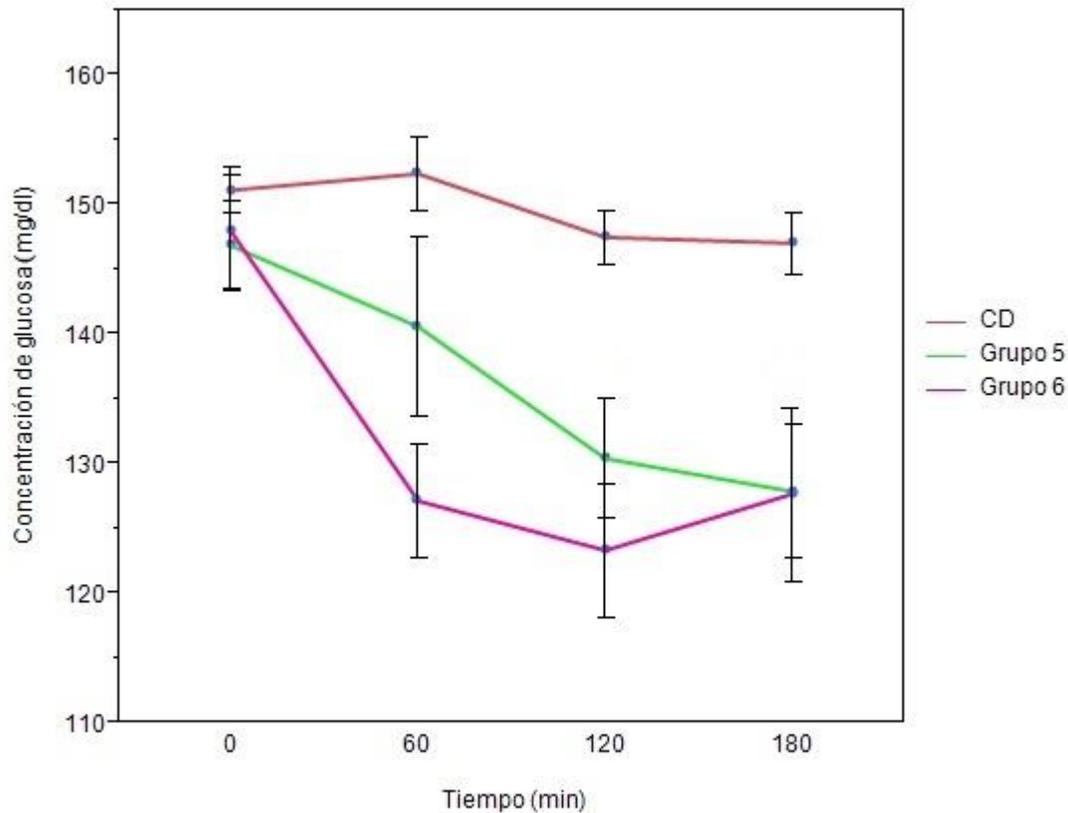
Grupo 4: Existe diferencia significativa comparándolo con el CD solo hasta el minuto 180, sin embargo al compararlo contra su propio T0 se observan valores significativos a partir del minuto 120 y se mantienen en el 180 (Grafica 2).



Gráfica 2. Efecto de dos hipoglucemiantes orales, medias \pm error estándar, n=11.

Grupo 5: Presenta valores significativos comparándolo con el CD a partir del minuto 120 y se mantienen hasta el 180. Al comparar los valores contra su propio T0 no se observaron diferencias significativas (Grafica 3).

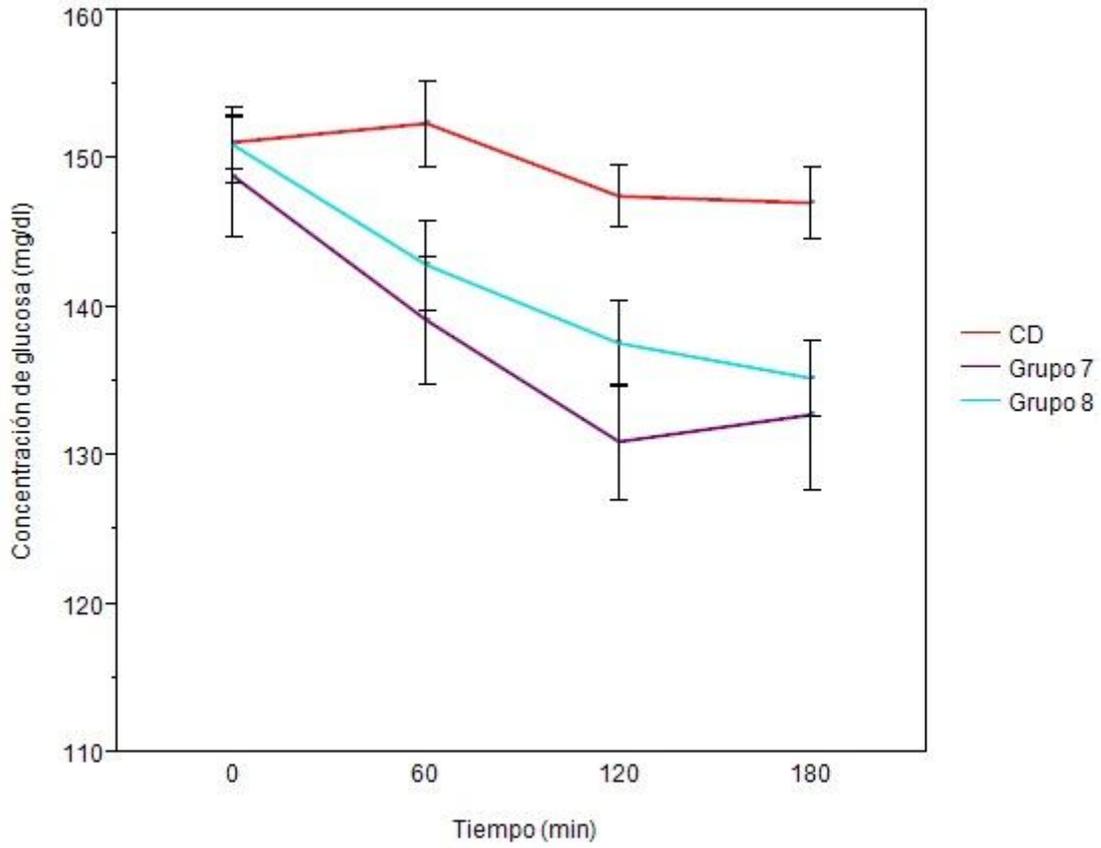
Grupo 6: los valores de glucosa son significativos a partir del minuto 120 al ser comparados contra CD y el T0, en ambos casos se mantienen significativos hasta el tiempo 180 (Grafica 3). Al compara este grupo con el grupo 5, se muestran diferencias significativas solo en el minuto 60.



Gráfica 3. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *S. moranensis* dosis mínima (tradicional) y máxima administrada (tradicional x10), medias \pm error estándar, n=11.

Grupo 7: Hubo diferencia significativa solo en el minuto 120 al compararlo contra el CD y su propio T0 (Grafica 4).

Grupo 8: Los valores se mostraron significativos en el minuto 120 y se mantiene hasta el tiempo 180 solo al compararlo contra su T0 (Grafica4). Al compararlo contra el grupo 7 se observan valores significativos en el minuto 120.



Gráfica 4. Efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de *S. moranensis*, dosis mínima (tradicional) y máxima administrada (tradicional x10), medias \pm error estándar, n=11.

Pruebas Fitoquímicas

Cromatografía de Capa Fina (TLC)

. Los compuestos identificados para cada uno de los extractos se observan en la tabla 1. Las placas pueden observarse en el anexo de la figura 12-15.

Mediante la prueba de cromatografía de capa fina (TLC por su siglas en inglés) se presentaron en ambos extractos (acuoso y etanol-agua) principalmente flavonoides, alcaloides.

Cuadro 6. Cromatografía de Capa Fina (TLC)

Extracto de <i>S. moranensis</i>	Compuesto identificado			
	Flavonoides glicólicos	Flavonoides aglicolicos	Terpenos	Alcaloides
Acuoso	+	+	-	+
Etanol-agua	+	+	-	+
Etanol-cetona	+	+	-	+
Metanólico	+	+	-	+
Hexánico	-	-	+	-

Presente (+) : Ausente (-)

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Por medio del análisis de HPLC se evaluó únicamente el extracto etanólico por el grupo de trabajo de etnofarmacología y determinado por el Dr. Adolfo Andrade Cetto, donde se detectaron 4 posibles compuestos. (Fig. 11).

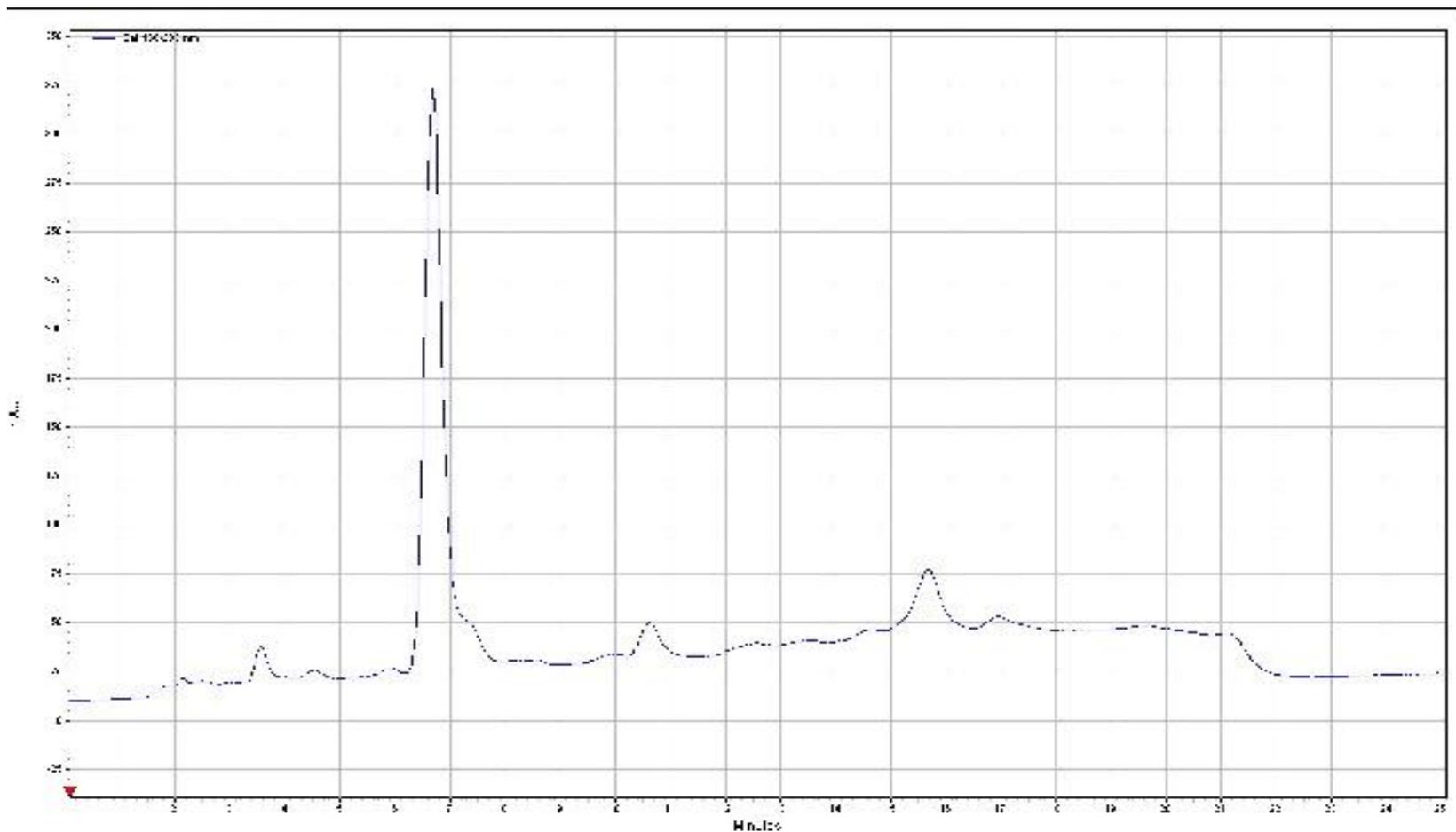


Fig. 11. UV-HPLC a 254 nm, del extracto etanólico de *S. moranensis*. En el eje Y la absorbancia y en el X el tiempo en minuto.

DISCUSIÓN

Dentro de la medicina tradicional, la herbolaria nos aporta amplios listados de plantas, que en la actualidad son utilizadas para el tratamiento de diferentes enfermedades (Argueta, 1994). Es notable la diversidad de plantas que se utilizan como remedio, y la cantidad de enfermedades que se cree que cura una sola planta. Es aquí donde radica la importancia de someter a análisis, tanto químicos como farmacológicos y comprobar el efecto que presentan las plantas sobre dichas afecciones.

Desde el siglo XVI se ha documentado que *S. moranensis* presenta actividad sobre distintas enfermedades (De la Cruz, 1964; Martínez, 1969; Andrade-Cetto. *et al*, 2006). Existen reportes del estudio de algunos ejemplares del género *Smilax* relacionados con un efecto hipoglucemiante sobre modelos animales (Fukunaga, 1996; García-Gonzales, 2008). Otros trabajos están relacionados con un efecto bactericida, fungicida o la disminución de peso (Caceres, 1990; de Sa Ferreira, 1997; Cirilo-Aguilar, 2003). Sin embargo pocos son los trabajos farmacológicos que aportan datos significativos de la presencia de un efecto hipoglucemiante de *S. moranensis*.

El presente trabajo evaluó el efecto de *S. moranensis* sobre diabetes inducida en ratas n_5 -STZ, se utilizó este modelo por ser adecuado para la estandarización de los niveles de glucemia; lo que se puede observar al comparar los grupos CND y CD durante los tiempos de medición (Cuadro 6).

A pesar de que este modelo experimental no mimetiza la diabetes tipo2 y se asemeja más a un modelo de diabetes tipo 1 (Breyer *et al.*, 2005), se observa la presencia de hiperglucemia y una respuesta favorable a los hipoglucemiantes orales.

Para el grupo 3 el cual fue tratado con Glibenclamida, se observó un efecto a partir del tiempo 60 (grafica 2), lo que concuerda con los resultados obtenidos por Andrade-Cetto, *et al* (2007), los cuales muestran un efecto dosis dependiente al tiempo, ya que al compararlo con el CD y su T0 se obtuvieron valores estadísticamente significativos.

Para el grupo 4 que recibió el tratamiento con Metformina se observa una disminución de los niveles de glucosa en el minuto 60, el efecto que se mantiene durante el experimento, mostrando una buena respuesta a los hipoglucemiantes (gráfica 2).

Al analizar cada uno de los extractos en sus diferentes dosis, se demuestra que el extracto acuoso de *S. moranensis* administrado al grupo 6 tiene mejor efecto hipoglucemiante que el mismo extracto en dosis mínima, tomando en cuenta la relación que existe entre una dosis mayor y rápida absorción, podemos asociarla a un pronto efecto, ya que se observan valores significativos durante la primer hora del experimento, que se mantienen hasta el minuto 180, sin embargo a partir de las dos horas de administrado el tratamiento se aprecia una disminución parcial del efecto (Grafica 3).

Aunque para el caso del extracto acuoso en una dosis de 20 mg/kg se muestra un efecto a partir del minuto 60 que se mantiene a lo largo del experimento, los valores significativos se observan a las dos horas de su administración en comparación con el CD (Gráfica 3). Esto está asociado al efecto dosis dependiente para este caso, y que la extracción de los metabolitos secundarios obtenidos sea mejor por medio de una infusión simple, lo que se vería reflejado en un efecto más prolongado sobre el modelo empleado. Además, el consumo en una dosis mínima de *S. moranensis* sí tiene efecto hipoglucemiante en la forma administrada tradicional, ya que en muchos casos es tomada como agua de uso durante todo el día, lo que puede apoyar a aumentar la concentración de los compuestos químicos a lo largo del día (Andrade-Cetto, 2005).

El efecto hipoglucemiante que presentan los extractos etanol-agua, para el caso del grupo 7 se muestra a partir del minuto 60 y muestra valores significativos hasta el 120, sin embargo se aprecia un aumento en los niveles de glucosa hacia el tiempo 180, lo que sugiere una disminución en el efecto en cambio el grupo 8 con una dosis mayor del mismo extracto muestra diferencia significativa desde las dos horas de su administración hasta el minuto 180 (Gráfica 4), esta significancia es sólo en comparación con el T0 (Cuadro 6).

La poca actividad que presentan los dos extractos puede deberse al tipo de extracción, ya que, al solo ser calentada y no hervida, los metabolitos no son arrastrados en su totalidad o en menor cantidad que si tuviéramos la fase líquida en ebullición.

Se realizaron TLC para la determinación de metabolitos secundarios (flavonoides, terpenos, alcaloides) que podrían estar asociados al efecto hipoglucemiante de *S. moranensis* (cuadro 6).

Los resultados obtenidos sobre las pruebas cualitativas para la identificación de flavonoides resultaron positivas para los extractos acuoso y etanol-agua, observándose la presencia de flavonoides glicólicos y aglicólicos para ambos casos.

Esto puede sugerir que la presencia de estos grupos de flavonoides están asociados al efecto hipoglucemiante. Torres-Piedra, *et al.*, en 2010, asocia la estructura básica de las flavonas a un efecto hipoglucemiante, al comparar diversos flavonoides estructuralmente similares sobre un modelo Na-STZ.

Para el caso de terpenos en el extracto acuoso y etanol-agua fue negativa, pero positiva para el extracto Hexánico, lo que concuerda con los datos obtenidos por Cirilo-Aguilar (2003), sin embargo, reporta la presencia de estos metabolitos tanto en extractos metanólico como acetónico,

Lo que explicaría la ausencia de estos metabolitos en los extractos acuoso, etanol - agua, etanol-cetona y metanólico pudiera deberse a que se tienen en menor concentración, por lo que se tendrían que realizar estudios fitoquímicos más detallados para asegurar su presencia o ausencia.

Las saponinas son muy frecuentes en las plantas medicinales y debido a su capacidad espumante resultan unos excelentes emulsivos, producen la hemólisis de los glóbulos rojos (eritrocitos); es decir, liberan hemoglobina (Domínguez, 1989)

La detección de alcaloides fue positiva para el extracto acuoso y etanol-agua, con respecto al extracto hexánico en el cual no se observó la presencia de estos. No podemos asegurar que los alcaloides no participen en el efecto hipoglucemiante, ya que se tiene presencia de estos en ambos extractos administrados.

En el análisis por HPLC del extracto etanólico, se identificó un compuesto mayoritario, que; no por ser el compuesto encontrado en mayor cantidad, significa que sea el principio activo asociado al efecto hipoglucemiante. Se tendría que realizar un tren de extracción, confirmar si este compuesto mayoritario también se presenta en otros extractos y en el extracto acuoso, ya que junto con este mayoritario se observan tres compuestos más en menor cantidad.

Para determinar el mecanismo de acción de *S. moranensis* son necesario más estudios, además de determinar qué metabolitos son los que están involucrados en este, ya que la presencia de terpenos en otros estudios (Cirilo-Aguilar, 2003), así como los reportes del contenido de saponinas triterpénicas (Martínez-Luma, 2005), pueden influir de una manera importante en la interacción con el modelo.

Sin embargo otros trabajos hacen referencia al efecto hipoglucemiante que presentan los flavonoides, como la inhibición intestinal de alfa glucocidasas (Andrade-Cetto et al., 2008); regulando la expresión de enzimas involucradas en el metabolismo de hidratos de carbono; su capacidad para evitar la absorción y/o mejorar la tolerancia a la glucosa (Brahmachari et al., 2011, Fontana, et al., 2011).

Otros estudios hacen referencia a la actividad hipoglucemiante de algunos extractos ricos en alcaloides, los alcaloides tienen efecto similar a la insulina o que estimulan directamente la enzimas involucradas en el metabolismo de la glucosa (Sharma et al., 2007). El potencial hipoglucemiante de alcaloides se observaron sobre los cambios en los niveles de varias enzimas responsables de mantener la homeostasis de la glucosa (enzimas hepáticas, glucocinasa, GK). Por lo tanto la presencia de alcaloides mejora la actividad de la enzima y/o mejorar el metabolismo de los hidratos de carbono (Sharma, et al., 2010).

Con los resultados obtenidos hasta el momento, podemos decir que los reportes y documentos sobre el uso de la raíz de *S. moranensis* (Cocolmecha), acerca del uso que se le da en la comunidad de Santos De los Reyes Nopala en el estado de Oaxaca como tratamiento para la diabetes, son correctos y que la infusión, es hasta ahora el mejor método de extracción y administración de los metabolitos responsables de su efecto hipoglucemiante.

Sin embargo, es necesario realizar pruebas para determinar los metabolitos presentes en los extractos acuoso y etanol-agua involucrados en el efecto, así como definir su mecanismo de acción. También estudios crónicos, para asegurar que *S. moranensis* no presentan efectos secundarios debido al consumo periódico.

CONCLUSIONES

- El extracto acuoso de *S. moranensis* administrado vía oral en una dosis 20 mg/kg y 200 mg/kg presentan un efecto hipoglucemiante a partir del tiempo 60. Con valores estadísticamente significativos a partir del minuto 120 y 60 respectivamente.
- El extracto etanol-agua de *S. moranensis* administrado vía oral en una dosis 20 mg/kg y 200 mg/kg presentan un efecto hipoglucemiante en ratas n₅-STZ a partir del minuto 60. Con valores estadísticamente significativos solo en el minuto 120 para ambos casos.
- Por medio de la cromatografía de placa fina (TLC) se detectó que los principales componentes en ambos extractos (acuoso y etanol-agua) son flavonoides y alcaloides
- El análisis por HPLC indica la presencia de un compuesto mayoritario, acompañado de tres componentes en menor cantidad en el extracto etanólico.

LITERATURA CONSULTADA.

- American Diabetes Association (ADA) 2011. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 61: S62-69.
- Aguilar A., Camacho JR., Chino S., Jaquez P., López ME. 1996. Plantas medicinales del herbario IMSS. Instituto Mexicano del Seguro Social. México.
- Aguilar- Salinas C. A., Rojas R., 2012, Epidemiología de la diabetes y síndrome metabólico en México, *Ciencias*, 63(1): 36-45.
- Asociación Latinoamericana de diabetes (ALAD) 2010, Guías ALAD de diagnóstico control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Página web <http://www.alad-latinoamerica.org> visitado octubre del 2012.
- Alarcón-Aguilar F., Roman-Ramos R., Pérez-Gutiérrez S., Aguilar-Contreras A., Contreras-Weber CC. Flores-Saenz J. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61: 101-110.
- Alice Y.Y. Cheng., I. George Fantus. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. 2005. *Canadian Medical Association or its licensors* 172 (2): 213-226.
- Andrade Cetto A. 1999. Estudio etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal & Chalm. y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis de Doctorado en Ciencias (Biología)-UNAM, Facultad de Ciencias. México.
- Andrade-Cetto A., Becerra-Jiménez J., Cárdenas-Vázquez R. 2007. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Andrade-Cetto A., Becerra-Jimenez J., Martinez-Zurita E., Ortega-Larrocea P., M. Heinrich. 2006. Disease Consensus Index as a tool as tool of

selecting potential hypoglycemic plants in Chikindzonot, Yucatán, México. *Journal of Ethnopharmacology*. 107: 199-204.

- Andrade-Cetto A., Cárdenas-Vázquez R., Ramírez-Reyes B. 2007. Hypoglycemic effect of *Cecropia peltata* L. on n-5 STZ type 2 diabetic rats. *Pharmacologyonline* 3: 203-210.
- Andrade-Cetto A., Helmut Wiedenfeld. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 78: 145-149.
- Andrade-Cetto A., M. Heinrich. 2005, Mexican Plants with Hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 99: 325-348.
- Andrade-Cetto A., M. Heinrich. 2011. From the field into the lab: useful approaches to selecting species based on local knowledge. *Frontiers in pharmacology*. Volume 2, article 20.
- Andrade-Cetto A., Martínez-Zurita E., Helmut Wiedenfeld. 2005. Hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 319-322.
- 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.
- Argueta A. Ed.1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. INI, México. 3 Tomos.
- Arias-Diaz J , Balibrea J. 2007. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria* 22:160-68
- Arulmozhi, D. K., Veeranjanyulu A., Bodhankar SL. 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of type 2 diabetes mellitus. *Aglonce. Indian Journal of Pharmacology*. 3 (4): 217-221.

- Augner, M., 1994, Should a plant always signal its defense against herbivores? *Journal of Chemistry Ecol*; 15: 1335-1347.
- Balkan B, Steffens AB, Bruggink JE, Strubbe JH. 1991. Hyperinsulinemia and glucose tolerance in obese rat on food intake and route of administration. *Metabolism* 40:1092-100.
- Becerra-Jiménez J., 2005. Estudio sobre el efecto de 5 plantas hipoglucemiantes mexicanas sobre la absorción de glucosa intestinal, en ratas (n-STZ) diabéticas. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 75 pp.
- Becerra-Jiménez J., 2008. Efecto de *O. streptacanta* Lem. Sobre la absorción de glucosa intestinala nivel intestinal. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología Experimental)-UNAM, Facultad de Ciencias. México.
- Bloomgarden Z. T. 2008. Approaches to treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 31: 1697-1703.
- Braithwaite, A. 1985, Métodos cromatográficos, 4^a ed., ED. Chapman & Hall, Londres, 216-217, 271-172.
- Brahmachari, G., 2011. Bio-flovonoids whit promising anti-diabetic potentials: A critical survey. En V. K Tiwary, Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry, 187-212.
- Breyer M. D., Böttinger E., Brosius FC., 2005, Mouse models of diabetic nephropathy, *Journal of American Society Nephrol.* 16: 27-45.
- Bonnier-Weir S., Trent DE., Honey R N., Weir GC.1981. Response to neonatal islets to streptozotocin: Limited β cell regeneration and hyperglycemia. *Diabetes* 30: 64-69.
- Brunton, L., Chabner, B. A. Knolimann, B., 2010, Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill 12th ed, p 1080.

- Cáceres A., Cano O., Samayoa B., Aguilar L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 30(1): 55-73.
- Calderon-Rzedowski G. 1994. *Smilacaceae*. Flora del Bajío y regiones adyacentes. Fasc. 26. Instituto de Ecología AC. México.
- Chen G., Chen L., Jiang P. 1996. Flavonol glucosides of *Smilax glabra* Roxb. *China journal of Chinese Materia Medica* 21 (6): 355-357.
- Chen T., Jianxin L., Jiansong C., Quiang X., Katzuko K., Tsuneo N. 1999. A new flavanone isolated from rizoma smilacis glabrae and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. *Planta Medica*. 65 (1): 56-59.
- Chen, A. Y. Y., Fantus I. G., 2005. Oral antihyperglycemia therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, 172(2): 213-226.
- Cirilo-Aguilar BG. 2003. Determinación bioquímica, reductora ponderal y supresora de apetito de *Smilax moranensis* Martens & Galeotti y *Centaurium quitense* (Kunth) B.L. Robinson. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas (especialidad en productos naturales). UANL, Facultad de Ciencias Biológicas, División de Estudios de Posgrado. México.
- De la Cruz M., Badiano J. 1964. *Livellus de Medicinalibus indorum Herbis*. Manuscrito 1552. IMSS. México.
- Domínguez Xorge A. 1989. *Método de investigación fitoquímica*. Edit. Limusa. México, DF. Pp 211-228, 281.
- Doyle M. And Egan. 2003, Pharmacological agents that directly modulate insulin secretion. *Pharmacological Reviews*. 55(1): 105-131.
- Escalante, P. M. 2001. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Actualidades. Hipoglucemiantes orales*. Vol. III. Investigación en Salud.

- Fernandes de Sa Ferreira IC., Ferao VM. 1999. Mutagenicity of medicinal plant extract in Salmonella/ microsome assay. *Phytotherapy Research* 13: 397-400.
- Fontana, D., Cazorolli, L H., Lavado, C., Mengatto, V., Bonorino, M. S. R., Guedes, A., Geraldo M., 2011, Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: potential targets for glucose homeostasis. *Nutrition*, 27: 1161-1167.
- Fukunaga T., Miura T., Furuta K., Kato A. 1997. Hipoglycemic effect of the rhizomes of *Smilax glabra* in normal and diabetic mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*; 20 (1): 44-46.
- Garcia-Gonzalez M., Diaz C., Villalobos R. 2008. Estudio toxicológico y farmacológico de los extractos hidroalcoholicos de algunas especies de *Smilax* de centro América. *Revista de Fitoterapia*. 8 (1): 49-57
- Garibay-Bagnis C., San Martín-Martínez E. 2006. Estudio del efecto hipoglucémico de algunas plantas utilizadas en México para el control de la diabetes. *Revista salud pública y Nutrición*. N.11.
- Gbif, <http://www.gbif.org/> (*Global Biodiversity Information Facility*).consultada enero 2013. Distribucion de *S. moranensis*. <http://data.gbif.org/species/5295142/>
- George E. T., 1988. Tratado de farmacognosia. Edit. Interamericana 12a edición México.
- Guthrie D., Guthier R. 2000, *Alternative and complementary diabetes care. How to combine natural and traditional therapies*. John Wiley and Sons. In new York, 183-217.
- Harris, D. C. 2001, *Análisis químico cuantitativo*". Madrid. Ed. Reverte, S. A. Barcelona.

- Heinrich M. 2008. Ethnopharmacy and natural product research— Multidisciplinary opportunities for research in the metabolomic age. *Phytochem Letters* 1: 1-5.
- Heinrich, M. 2003. Ethnobotany and natural products: the search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures. *Current Topics Medicinal Chemistry* 2: 141-54.
- Hernández F. 1959. Historia de las plantas de la Nueva España. Instituto de Biología. Vol. I, II, III. UNAM. México.
- Hernandez G. 2002. Studies on Hypoglycemic Activity of Mexican Medicinal Plants. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*. 45: 118-124.
- Hernández-Montiel. 2003. Efecto de la cocarboxilasa en la lesión producida por la estreptozotocina en la células beta pancreáticas de rata. 2° Congreso Nacional de Química Médica. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Hernández, I., González, C. 2002, Introducción al análisis instrumental. Ed. Ariel Ciencia.
- Hinke, Simon. 2004. Plasticity of the B cell insulin secretory competence: Preparing the pancreatic B cell for the next meal. *Journal of Physiology*, 558 (2): 369-380
- Holmstedt B and Bruhn Jan G. 1983. Ethnopharmacology-A challenge. *Journal of Ethnopharmacology* 7: 251-256.
- Instituto de Biología. "*Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti. IBUNAM: MEXU:PVsn14799". Consultado marzo 2012.
- Islas, Andrade. S. 1999. Diabetes Mellitus. Mc Graw-Hill Interamericana. Segunda edición. México. 448 pag.

- C. Ronald Kahn y cols. Joslin, Elliot, Joslin's Diabetes Mellitus. 14^a edición. 2007. Barcelona. P. 1207
- Kenneth A., Rubinson, Judith F. Rubinson, 2004. Análisis Instrumental, Ed. Prentice Hall, España, 730-739.
- LeDoux SP., Woodley SE., Patton NJ, and Wilson GC. 1986. Mechanism of nitrosurea- induced β cell damage. Alterations in DNA. Diabetes 35: 866-872.
- Loro, J. F., 2001. Manual de cromatografía. Colección Textos Universitarios. Mc Graw Hill.
- Martínez M. 1944. Catalogo de nombres vulgares y científicos de plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económico. México.
- Martínez Zurita Eddy Cuauhtémoc. 2007. Efecto hipoglucemiante de Mosannonna depressa (Baill) Chatrou en ratas con diabetes tipo II inducida. México. Tesis de Maestría-UNAM, Facultad de Ciencias
- Mejía Luna Isabel. 2007. Efecto hipoglucemiante de Toumefortia hirsutissima L. y Parathesis lenticellata Lundell en ratas diabéticas (n-STZ). México, Tesis Licenciatura (Biólogo)-UNAM, Facultad de Ciencias.
- Missouri Botanical Garden, Tropicos. http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast visitado febrero de 2012
- Moller David E., 2001. New drug targets for Type 2 diabetes and the metabolic syndrome. Nature 414: 821-827.
- Montgomery. D. C, 2004, Diseño y análisis de experimentos. Edit. Limusa S.A de C.V, México. Pp. 686.
- Mooradian A.D 1996, Drug therapy of non-insulin-dependent diabetes mellitus in elderly. Drugs 51: 931-41.

- Moran Sanabria, Liborio. 2006. Efecto de la diabetes materna sobre el desarrollo del páncreas fetal de rata. México. Tesis Licenciatura (Biólogo) UNAM, Facultad de Ciencias.
- Navarro MC., Montilla MP., Cabo M. M., Galisteo M., Cáceres A., Morales C., Berger I. 2003. Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. *Phytotherapy Research* 17: 325-329.
- Okamoto H. 1981. Regulation the proinsulin synthesis in pancreatic islets and a new aspect to insulin-dependent diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry* 37: 43-61.
- Portha B., Giroix, Serradas, Movassat, Bailbe. 2002. The neonatally streptozotocin induced (n-STZ) diabetic rats a family of NIDDM models. *Animal Models of diabetes*. Harwood Academic Publishers. Pp. 247-272.
- Portha B., Picolon L., Rosselin G. 1979. Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. *Diabetologia* 17: 371-377.
- Ramon García Laura. 2006. Estudio comparativo del efecto hipoglucemiante de la raíz de *Ibervillea sonora* y *Phoradendron spp* contra metformina. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
- Ramírez-Luna R., 2005, Control químico de plantas medicinales *Smilax sp*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, pag. 49.
- Roman-Ramos R., Flores-Saenz JL., Alarcón-Aguilar FJ. 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Journal of Ethnopharmacology* 48: 25-32.
- Santos W., Bernardo R., Torres L., Palatnik M., Parente J., Palatnik C. 1997. Haemolytic activities of plant saponins and adjuvants. Effect of

Periandra mediterranea saponin on the humoral response to the FML antigen of *Leishmania donovani*. *Vaccine* 15 (9): 1024-1029.

- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. 2001. Química analítica. Ed. Mc Graw Hill. 7ª edición.
- Shapiro ET., Van Cauter E., Tilil H., 1989. Glyburide enhances the responsiveness of the beta cell to glucose but does not correct the abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal Clinical Endocrinol Metabolism* 69:572-576.
- Sharma B., Salunke R, Balomajumder C., Daniel S, Roy P, 2010, Antidiabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice, *Journal of Ethnopharmacology* 127: 457–462.
- Shiruzi JA, Sarvetnick N. 1991. Transgenic mice for the study of diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2: 97-104.
- Soto Constantino, Ana Laura 2007. Efecto de dos plantas mexicanas, con actividad hipoglucemiante, *Cecropia obtusifolia* Bertol y *Mosannonia depressa* (Baill) Chatrou, sobre la secreción de insulina en ratas diabéticas n-STZ. México, Tesis de licenciatura Biólogo-UNAM, Facultad de Ciencias.
- Soumyanath A., 2006. Traditional Medicines for Modern Times Antidiabetic Plants. Taylor and Francis group. Boca Raton Florida, EU. 314 p.
- Secretaria de Salud (SSa). 2012. <http://www.salud.gob.mx>.
- Stojanovska L, Rosella G, Proietto J. 1990. Evolution of dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Am. Journal of Physiology* 258: 748-756.
- Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β -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*. New Jersey, 237 (5): 481-90.
- Torres-Piedra, M., Ortiz-Andrade, R., Villalobos-Molina R., Singh N., Medina-Franco, J. L., Wester, S P., Binnie, M., 2010. A Comparative study of flavonoid analogues on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: quercitin as potential antidiabetic agent acting via 11- β -hidroxy steroid type 1 inhibition. *European journal of medicinal chemistry*, 45(6): 2606-12.
- Van der Wal PS., Draeger KE., van Iperen AM., 1997. Beta cell response to oral glimepiride administration during and following a hiperglycaemic clamp in NIDDM patients. *Diabet Med*, 14:556-563.
- Waller, Donald. 1993. *Methods in ethnopharmacology*. Elsevier Scientific Publishers Ireland.
- Wehmeier UF., Piepersberg W. 2004. Biotechnology and molecular biology of the alpha-glucosidase inhibitor acarbose. *Applied Microbiology Biotechnology* 63: 613–625.
- World Health Organization (WHO) 2012. <http://www.who.int/es/>.
- Zhao G, Zhang X, Smith CJ, Xu X, Ochoa M, Greenhouse D. 1999. Reduced coronary NO production in conscious dogs after the development of alloxan-induced diabetes. *Journal of Physiology* 277: 268-278

Anexo
Placas de TLC

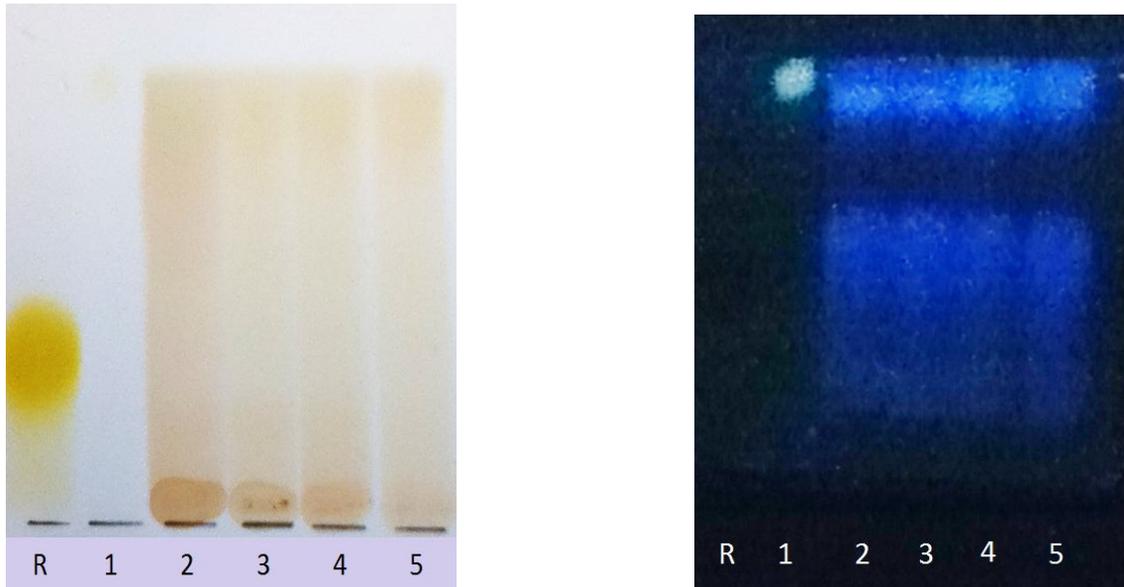


Figura 12. Cromatografía de capa fina para identificar flavonoides glicólicos. 1- extracto hexánico, 2- extracto metanólico, 3- extracto etanólico, 4- extracto eyanol-agua, 5-extracto acuoso.

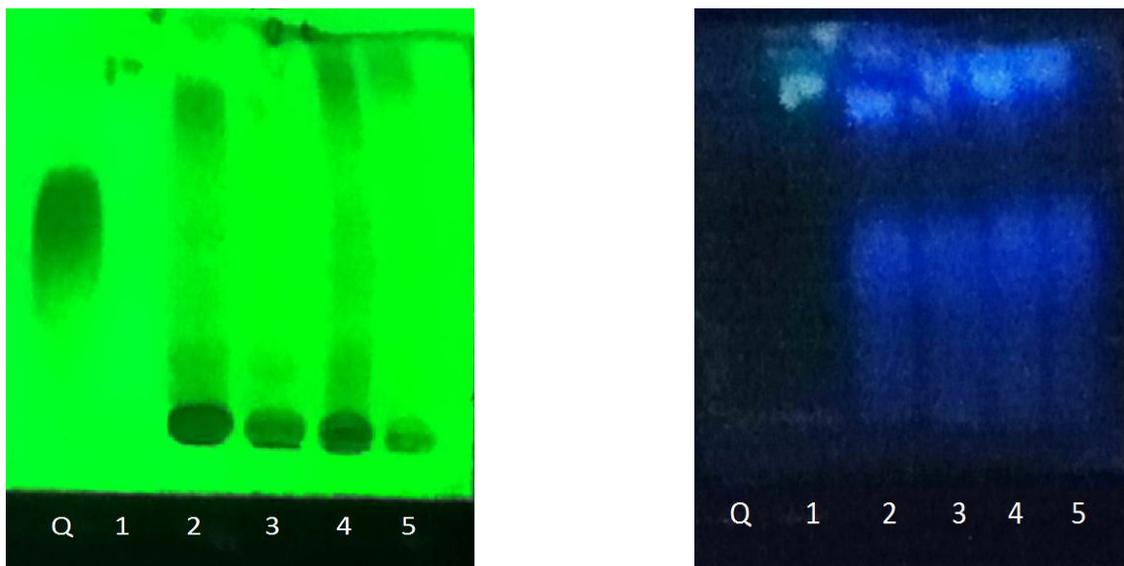


Figura 13. Cromatografía de capa fina para identificar flavonoides aglicolicos. 1.- extracto hexánico, 2.-extracto metanólico, 3.-extracto etanólico, 4.-extracto eyanol-agua, 5.-extracto acuoso.

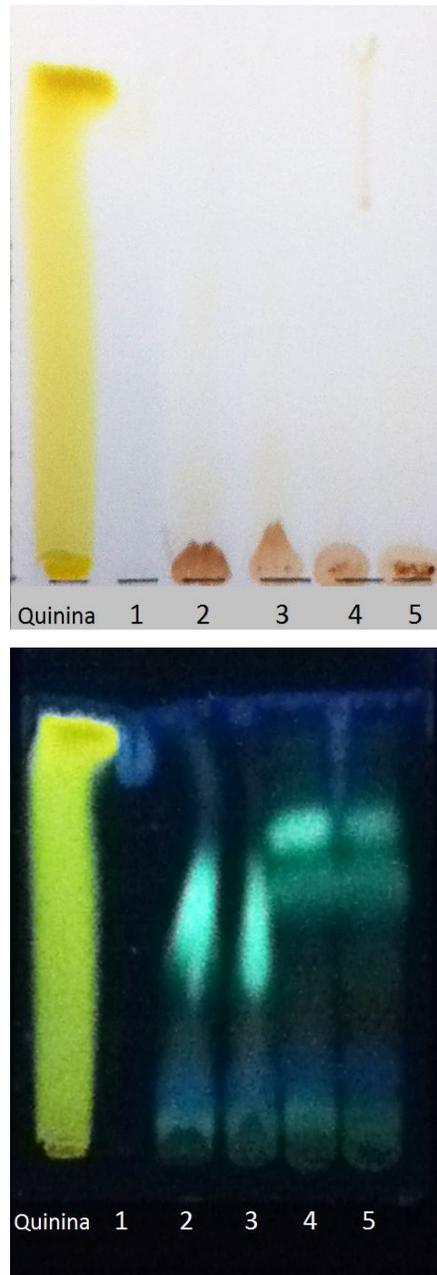


Figura 14. Cromatografía de capa fina para identificar alcaloides. 1.-extracto hexánico, 2.-extracto metanólico, 3.-extracto etanólico, 4.-extracto eyanol-agua, 5.-extracto acuoso.