



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**Estudio Fitoquímico Biodirigido de la Actividad
Hipoglucémica y Antidiabética de *Croton reflexifolius* en
Ratas Wistar**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO

PRESENTA:

ERICK ALBERTO TENORIO JIMÉNEZ

Director de Tesis: Dr. Benito Reyes Trejo

Asesor de Tesis: Dr. Holber Zuleta Prada

JUNIO 2015



México, D. F.



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.

A la memoria de mi madre, que siempre me acompaña con una mano sobre el hombro o con un susurro al oído y que nunca me ha dejado en mis días de lucha, hoy quiero compartirla un día de gloria.

A mi padre a quien le debo todo lo bueno que tengo en mí, gracias por los desvelos, las preocupaciones y por todos tus consejos. Gracias por la inspiración que día a día me das enfrentándote al sin fin de adversidades que te ha puesto la vida, enseñándome como debe ser un verdadero hombre, humano, gentil, honesto y amado. Ya que sin ti no podría haber llegado hasta aquí y que por ti lograre mucho más.

Continúa mirándome porque te demostraré el fruto de todo tu esfuerzo.

Contenido

Índice de figuras	6
Índice de gráficas.....	7
Índice de tablas	8
Índice de diagramas.....	9
1. Resumen	10
2. Introducción.....	11
3. Marco Teórico.....	12
3.1 La Diabetes en el Mundo	12
3.1.1 Clasificación de la diabetes	13
3.2 Diabetes en México	14
3.3 Costo del tratamiento para Diabetes mellitus	15
3.4 Ingreso Hospitalario	16
3.5 Diagnóstico de la Diabetes Mellitus	19
3.6 El papel de la insulina y los hipoglucemiantes.	20
3.6.1 Biosíntesis de la insulina	20
3.6.2 Efectos de la deficiencia de Insulina	20
3.6.3 Tratamiento no farmacológico de la Diabetes.....	20
3.6.4 Tratamiento Farmacológico de la Diabetes: Fármacos Hipoglucemiantes.....	21
3.6.5 Efecto antihiper glucémico	22
3.6.6 Efecto antidiabético	22
3.7 La medicina tradicional: Plantas medicinales y sus extractos	23
3.8 Plantas medicinales en México	23
4. Planteamiento del problema	27
5. Hipótesis	28
6. Objetivos.....	29
7. Diseño experimental.....	30
8. Material y Método.....	33
9. Resultados	35
10. Discusión de resultados.....	39
11. Conclusiones.....	43

12.	Perspectivas	44
13.	Referencias.....	45
	Anexo 1.....	49
	Anexo 2.....	50
	Anexo 3.....	51
	Anexo 4.....	52
	Anexo 5.....	53

Índice de figuras

Figura 1	Mapa de Regiones de la Federación Internacional de Diabetes y proyecciones mundiales del número de personas con diabetes (20-79 años) 2013 y 2035	12
Figura 2	Distribución de <i>Croton reflexifolius</i> en el mundo	26
Figura 3	Estructura del ácido poliáltico	26
Figura 4	Espectro de Infrarrojo del compuesto purificado	49
Figura 5	Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H del compuesto purificado	50
Figura 6	Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C del compuesto purificado	51
Figura 7	Espectro de Resonancia Magnética Nuclear DEPT del compuesto purificado	52

Índice de gráficas

Grafica 1	Primeros 10 países/territorios en número de personas con diabetes [20-79 años]	14
Grafica 2	Principales causas de ingreso hospitalario en pacientes diabéticos, México 2007	16
Grafica 3	Principales causas de egresos hospitalarios en pacientes con complicaciones de diabetes mellitus durante 2010.	17
Grafica 4	Cantidad de extracto obtenido por disolvente empleado	35
Gráfica 5	% Variación en la Concentración de Glucosa en sangre posterior a la administración de extractos de <i>C.reflexifolius</i> (Corteza)	37
Grafica 6	Rendimiento de la percolación de la fracción F2 del extracto de CH ₂ Cl ₂ de Croton reflexifolius	37
Grafica 7	Promedios de la concentración de glucosa en sangre posterior a la administración de glibenclamida a tres concentraciones 10, 100 y 300 mg/Kg	53
Grafica 8	Promedio de % de variación de glucosa en sangre, administración oral de Glibenclamida	54

Índice de tablas

Tabla 1	Proyecciones mundiales del número de personas con diabetes (20-79 años) 2013 y 2035	13
Tabla 2	Principales Causas de Defunción en México en el año 2012	15
Tabla 3	Tasa de mortalidad observada de diabetes mellitus por grupo quinquenal de edad según tipo 2010. Por cada 100 mil habitantes	17
Tabla 4	Principales causas de enfermedades no transmisibles por año	18
Tabla 5	Tasa de mortalidad observada de diabetes mellitus por grupo quinquenal de edad según tipo 2010, por cada 100 mil habitantes	19
Tabla 6	Fármacos hipoglucecientes	21
Tabla 7	Diseño experimental	30
Tabla 8	Información taxonómica de <i>Croton reflexifolius</i>	35
Tabla 9	Concentración de Glucosa en ratas Wistar sanas durante la administración de los extractos de hojas de <i>C. reflexifolius</i>	36
Tabla 10	Concentración de Glucosa en ratas Wistar sanas durante la administración de los extractos de corteza de <i>C. reflexifolius</i>	36
Tabla 11	Concentración de Glucosa en ratas Wistar sanas durante la administración de las fracciones del extracto de CH ₂ Cl ₂ de hojas de <i>C. reflexifolius</i>	38
Tabla 12	Concentración de Glucosa en ratas Wistar diabéticas durante la administración del extracto de CH ₂ Cl ₂ de <i>C. reflexifolius</i> , fracción F2 y compuesto purificado	38
Tabla 13	Efecto hipoglucémico de la Glibenclamida. Concentración de glucosa mg/dL	53
Tabla 14	Promedio de Porcentaje de variación de glucosa posterior a la administración de glibenclamida	54

Índice de diagramas

Diagrama 1	Proceso general del estudio fitoquímico	31
Diagrama 2	Proceso general de la evaluación del efecto terapéutico	32

1. Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar el estudio fitoquímico del *Croton reflexifolius* desde el punto de vista hipoglucémico, debido a que dentro de la medicina tradicional mexicana es empleado en el tratamiento de la diabetes o hiperglucemia.

Como parte de la metodología se emplearon tres disolventes de distintas polaridades: hexano, diclorometano y metanol para extraer en tres grupos los compuestos presentes en el *C. reflexifolius*, posteriormente se evaluó el efecto hipoglucémico de cada extracto suspendido en solución salina y Tween 80, empleando ratas Wistar como modelo animal mediante administración oral utilizando como fármaco control glibenclamida (control positivo) y como blanco solución salina con Tween 80 (control negativo), una vez identificado el extracto de mayor actividad hipoglucémica se procedió a separar en seis fracciones los compuestos presentes en dicho extracto mediante cromatografía en columna, para ser evaluados nuevamente en el modelo animal de ratas Wistar y determinar la fracción que presenta los compuestos de mayor actividad terapéutica, y así obtener el compuesto de mayor proporción del que fue nuevamente evaluado su efecto hipoglucémico. Posteriormente el extracto madre de CH₂Cl₂, la fracción activa F2 y el compuesto purificado fueron evaluados en ratas Wistar con diabetes inducida mediante clorhidrato de aloxan.

Finalmente se procedió a comparar las señales obtenidas mediante resonancia magnética nuclear de hidrógeno del compuesto purificado con las señales reportadas para el ácido poliáltico presente en el *C. reflexifolius*; obtenido concordancia entre dichas señales por lo que se presume que el ácido poliáltico es en parte responsable de la actividad hipoglucémica del *C. reflexifolius*.

2. Introducción

La diabetes está presente en todos los países del mundo, desde los más desarrollados hasta los menos desarrollados en diferentes proporciones, siendo más prevalente en aquellos países con programas menos eficientes de prevención y control, por lo que el número de personas que padecen esta enfermedad continua en aumento. La diabetes tipo 2 representa alrededor del 85 al 95% del total de casos de diabetes en países de ingresos altos y podría ser responsable de un porcentaje aún mayor en países de ingresos medios y bajos. La diabetes tipo 2 es hoy un problema sanitario mundial frecuente y grave, el cual, en la mayoría de los países, se ha desarrollado en paralelo a los rápidos cambios culturales y sociales, el envejecimiento de la población, el aumento de la urbanización, los cambios de dieta, la reducción de la actividad física y otros comportamientos poco saludables. La diabetes tipo 1, aunque es menos frecuente que la diabetes tipo 2, aumenta cada año, tanto en los países ricos como en los pobres. En la mayoría de los países de ingresos altos, la mayor parte de las personas con diabetes de los grupos de edad más jóvenes tiene diabetes tipo 1. Lo anterior destaca la importancia de realizar estudios que complementen o mejoren los tratamientos actualmente utilizados para el tratamiento de la diabetes, este trabajo presenta el estudio fitoquímico del *Croton reflexifolius* también conocido como "Huilocuahuitl" de una planta originaria de la Huasteca hidalguense, empleada en infusiones (aguas de uso) para tratar problemas de hiperglicemia debido a sus propiedades hipoglucémicas.

Se empleó la polaridad de disolventes como hexano, diclorometano y metanol para extraer en grupos las moléculas presentes en el *Croton reflexifolius*, que posteriormente fueron evaluadas en un modelo animal conformado por ratas Wistar sanas (normoglicémicas) a las que se les midió la glucosa en sangre con por medio de glucómetro comercial One Touch Ultra y ratas Wistar inducidas a la diabetes por medio de clorhidrato de aloxan a partir de una inyección intraperitoneal, que de igual forma fueron monitoreadas por medio de un glucómetro comercial One Touch Ultra; con el fin de obtener una de las moléculas que posiblemente son responsables del efecto terapéutico que de acuerdo con la medicina tradicional posee esta planta. Destacando que se sabe muy poco sobre esta planta, de manera que se podrían sentar las bases de futuras investigaciones sobre el *Croton reflexifolius*.

3. Marco Teórico

3.1 La Diabetes en el Mundo

Dentro de las enfermedades que más afligen a la población se encuentra la diabetes; la diabetes es una enfermedad crónica que afecta a un gran número de personas directa o indirectamente, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) hay más de 347 millones de personas con esta enfermedad alrededor del mundo, en el año 2004 fallecieron 3.4 millones de personas como consecuencia del exceso de azúcar en la sangre; de las cuales más del 80% pertenecían a países de ingresos bajos y medios; y casi la mitad de estas muertes corresponden a personas de menos de 70 años, de las cuales el 55% son mujeres. Así mismo la Federación Internacional de Diabetes (FID) estima que las muertes por diabetes se duplicaran para la década del año 2030 (figura 1 y tabla 1). La OMS define la diabetes como una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce; ya que la insulina es la hormona que regula el azúcar en la sangre es muy importante para nuestro organismo. El efecto no controlado de esta enfermedad es conocido como hiperglucemia es decir el aumento del azúcar en la sangre, que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos.^{1, 2, 3}

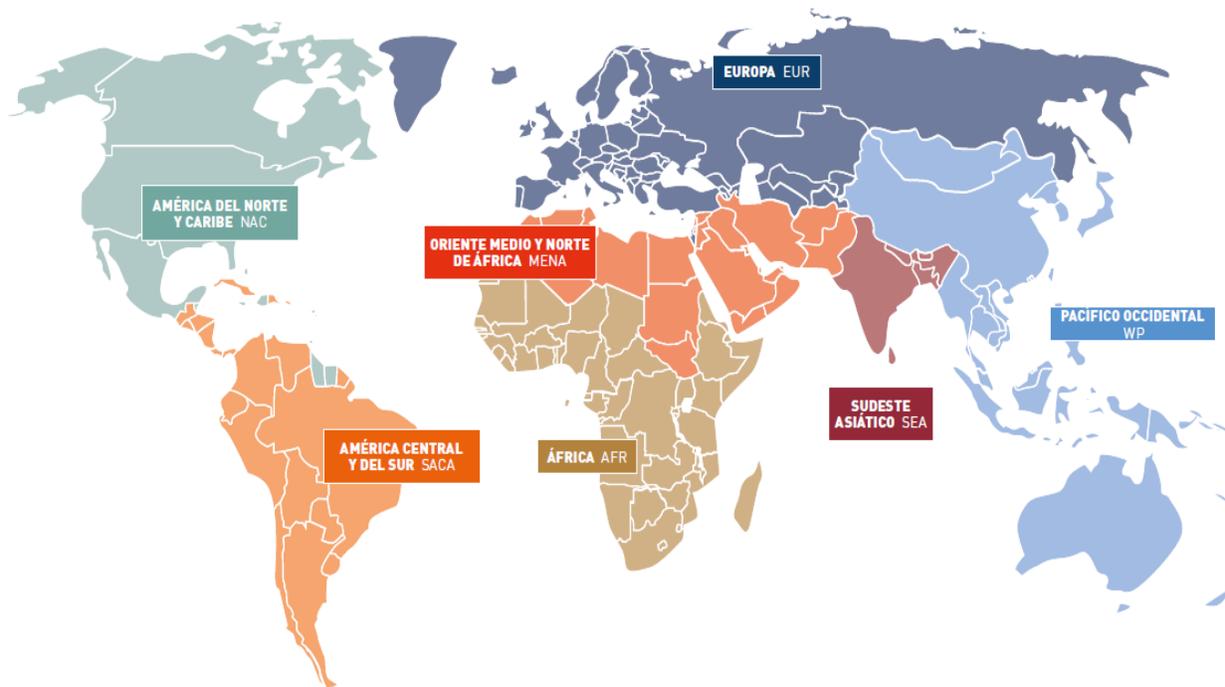


Figura 1. Mapa de Regiones de la Federación Internacional de Diabetes y proyecciones mundiales del número de personas con diabetes (20-79 años) 2013 y 2035

Fuente: Federation International Diabetes. FID. http://www.fmdiatetes.org/fmd/des/SP_6E_Atlas_Full.pdf

Tabla 1. Proyecciones mundiales del número de personas con diabetes (20-79 años) 2013 y 2035

Región de la FID	Año 2013	Año 2035	Aumento
	Millones	Millones	%
África	19.8	41.4	109
Oriente medio y Norte américa	34.6	67.9	96
Sudeste asiático	72.1	123	71
América central y del Sur	24.1	38.5	60
Pacífico Occidental	138.2	201.8	46
América del Norte y Caribe	36.7	50.4	37
Europa	56.3	68.9	22
Mundo	381.8	591.9	55

Fuente: Federation International Diabetes. FID. http://www.fmdiabetes.org/fmd/des/SP_6E_Atlas_Full.pdf

Vinculado a la diabetes aumenta el riesgo de numerosas enfermedades, como cardiopatía y accidente vascular cerebral, un 50% de los pacientes con diabetes mueren de enfermedad cardiovascular, otras enfermedades son la neuropatía y retinopatía diabética. La neuropatía de los pies combinada con la reducción del flujo sanguíneo incrementa el riesgo de úlceras de los pies y, en última instancia amputación; mientras que la retinopatía diabética es una de las principales causas de ceguera. Al cabo de 15 años con diabetes, aproximadamente un 2% de los pacientes pierden por completo la vista y un 10% sufren un deterioro grave de la visión. Igualmente la diabetes se encuentra entre las principales causas de insuficiencia renal, del 10 al 20% de los pacientes con diabetes mueren por esta causa. En resumen los pacientes con diabetes presentan un riesgo de muerte de al menos dos veces mayor que en las personas sin esta enfermedad. Aunado al impacto en la salud de quienes la padecen, también es necesario considerar el impacto en la economía de los pacientes y sistemas de salud debido a los gastos que conlleva su cuidado y manejo, se calcula que entre 4 y 5% de los presupuestos de salud se invierten en las enfermedades relacionadas con la diabetes, mientras que los gastos médicos de una persona con diabetes son dos a cinco veces más altos que los de una persona normogluccémica. ^{1,3}

3.11 Clasificación de la diabetes

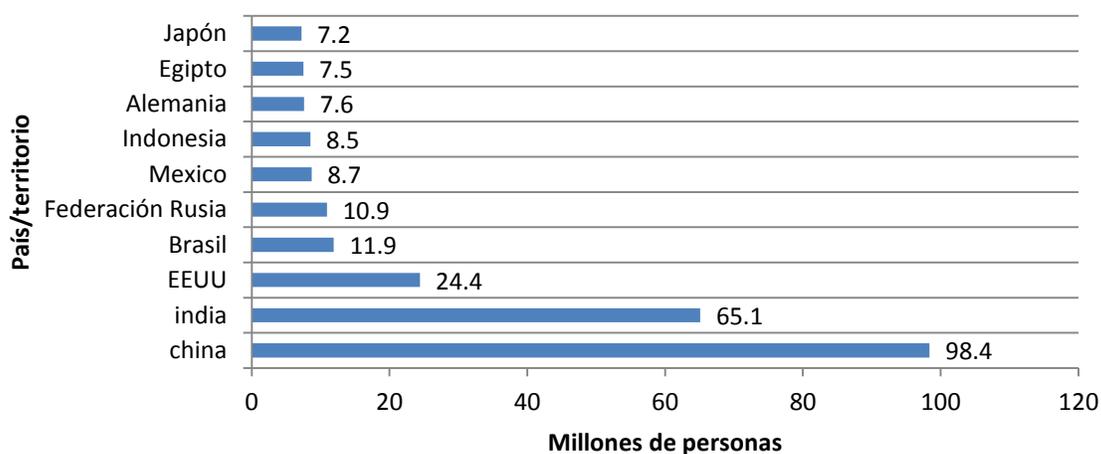
La diabetes se clasifica en tres tipos, Diabetes Mellitus Tipo I, Diabetes Mellitus Tipo II y Diabetes Gestacional. ³

- **Diabetes Mellitus de tipo 1**
La diabetes de tipo 1 (también llamada insulino dependiente, juvenil o de inicio en la infancia). Se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere la administración diaria de esta hormona.
- **Diabetes de Mellitus tipo 2**
La diabetes de tipo 2 (también llamada no insulino dependiente o de inicio en la edad adulta). Se debe a una utilización ineficaz de la insulina. Este tipo representa el 90% de los casos mundiales y se debe en gran medida a un peso corporal excesivo y a la inactividad física.
- **Diabetes gestacional**
La diabetes gestacional es un estado hiperglucémico que aparece o se detecta por vez primera durante el embarazo.
Sus síntomas son similares a los de la diabetes de tipo 2, pero suele diagnosticarse mediante pruebas prenatales, más que porque el paciente refiera síntomas.

3.2 Diabetes en México

El papel de México es importante dentro del esquema mundial de la diabetes, debido a que se encuentra en el sexto lugar en prevalencia de diabetes en el mundo con 8.7 millones de personas (gráfica 1) después de China, India, Estados Unidos de América, Brasil y la Federación Rusia.⁶

Gráfica 1. Primeros 10 países/territorios en número de personas con diabetes [20-79 años]



Gráfica 1. Primeros 10 países/territorios en número de personas con diabetes [20-79 años]

Fuente: Federation International Diabetes. FID. <http://fmdiabetes.org.mx/atlas-de-la-diabetes-de-la-idf-actualizacion-2014/>

En México la diabetes es una de las principales enfermedades responsables del incremento en el número de defunciones de la población (tabla 2). En el año 2012 la diabetes fue responsable de 85,055 decesos, representando el 14.12 % del total de defunciones nacionales (5), vinculándose de esta forma con diversos costos para la población con diabetes de naturaleza financiera y no financiera. Los costos directos y de carácter financiero se consideran hacia el paciente, si el individuo o su familia tienen que pagar el cuidado médico, los medicamentos y otros accesorios, ya que lo debe pagar de su propio bolsillo. Los costos que son considerados directos para los sistemas de salud abarcan desde las consultas de primer nivel y la visita de pacientes a los hospitales (bajo costo) hasta las largas estadías de los pacientes en los hospitales para el tratamiento de complicaciones (costo elevado). Siendo las acciones tempranas que se toman en el desarrollo de la enfermedad las más benéficas en términos de calidad de vida y más efectiva en cuanto a costo, en especial si esta acción puede prevenir hospitalizaciones.^{1,6}

De igual forma, como sociedad pagamos los costos de la diabetes ya que mientras algunas personas con diabetes pueden disfrutar de vidas productivas tanto en empleos remunerados como en el hogar, existe su contraparte, personas que a causa de discapacidad, ausencia por enfermedad, retiro prematuro o muerte prematura representan una baja productividad para la economía de la sociedad siendo un costo indirecto de la diabetes.¹

Tabla 2. Principales Causas de Defunción en México en el año 2012

Principales causas	Defunciones	%
Total	602354	100
Enfermedades del corazón ^a	109309	18.15
Enfermedades isquémicas del corazón	74057	12.29
Diabetes mellitus	85055	14.12
Tumores malignos	73240	12.16
Accidentes	37727	6.26
De tráfico de vehículos de motor	17098	2.84
Enfermedades del hígado	33310	5.53
Enfermedad alcohólica del hígado	12540	2.08
Enfermedades cerebrovasculares	31905	5.30
Agresiones	25967	4.31
Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	18532	3.08
Influenza y neumonía	15734	2.61
Ciertas afecciones originadas en el periodo perinatal ^b	14391	2.39
Dificultad respiratoria del recién nacido y otros trastornos respiratorios originados en el periodo perinatal	6372	1.06
Insuficiencia renal	11955	1.98
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	9414	1.56
Desnutrición y otras deficiencias nutricionales	7730	1.28
Lesiones autoinfligidas intencionalmente	5549	0.92
Bronquitis crónica y la no especificada, enfisema y asma	5172	0.86
Enfermedad por virus de la inmunodeficiencia humana	4974	0.83
Septicemia	4516	0.75
Anemias	3647	0.61
Enfermedades infecciosas intestinales	3347	0.56
Úlceras gástrica y duodenal	2496	0.41
Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio, no clasificados en otra parte	10656	1.77
Las demás causas	87728	14.56

Fuente: INEGI. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>

3.3 Costo del tratamiento para Diabetes mellitus

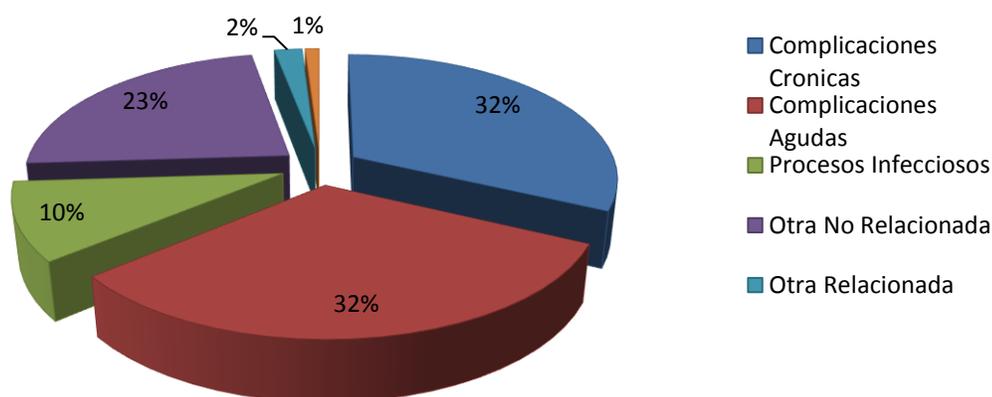
La diabetes mellitus es considerada como un trastorno crónico complejo que conlleva la disminución de la esperanza de vida así como de la calidad de la misma, debido a su asociación con múltiples complicaciones microvasculares (retinopatía, nefropatía y neuropatía) y macrovasculares (infarto agudo de miocardio y enfermedades cerebrovascular y vascular periférica); de aquí la importancia de un tratamiento farmacológico accesible para la población que promueva su calidad de vida. Hasta el año 2010 el IMSS invertía US\$ 452 064 988 en el tratamiento de pacientes con diabetes mellitus 2; promediándose un costo por paciente de US\$ 3 193.75; del cual un porcentaje era referido a los hipoglucemiantes orales que en el periodo de 1999 a 2003 aumentaron un 141.13% su consumo, siendo las combinaciones de sulfonilureas/biguanidas los más vendidos en el mercado mexicano de la cual la glibenclámda/metformina

es la que tiene una mayor participación en ventas, debido a que la forma farmacéutica contiene principios activos que actúan por dos mecanismo de acción distintos, representando una alternativa favorable para un importante número de pacientes de diabetes mellitus. Se ha estimado que para 2025 en México habrá cerca de 11.7 millones de diabéticos, cifra que continuaría en aumento debido al envejecimiento, la urbanización y la alta prevalencia de obesidad e inactividad física que caracterizan a la población. En consecuencia, se proyecta que para 2030 habrá un incremento desmedido en los costos de atención médica, estimados en US\$ 14 695 229 000 y equivalentes a 15.0% del gasto total en salud, lo que ciertamente tendrá un impacto económico negativo en todo el sistema de salud nacional. ^{7,8}

3.4 Ingreso Hospitalario

Hasta el año 2007 (Gráfica 2) el Sistema de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria de la Diabetes Mellitus (SVEHDM) registro un total de 11,068 casos con edad al diagnóstico igual o mayor a 20 años (44% pacientes masculinos y 56% pacientes femeninos) con un promedio de edad al ingreso a hospitalización de 58 años y al diagnóstico de 48 años; de manera que el grupo etario más afectado es el de tercera edad, sin embargo esto no absuelve a los niños y jóvenes que por inadecuadas costumbres alimenticias y falta de ejercicio físico están aumentando el número de casos de Diabetes mellitus tipo I.⁹

Gráfica 2. Principales causas de Ingreso hospitalario en pacientes diabéticos, México 2007



Gráfica 2. Principales causas de ingreso hospitalario en pacientes diabéticos, México 2007

Fuente: CENAPRECE. <http://www.dgepi.salud.gob.mx/boldiabetes/Boletin-cierre07.pdf>

En este mismo año de las causas de ingreso relacionado con la diabetes, las más frecuentes fueron la cariocidosis (10.4%), seguida del estado hiperosmolar (10.1%), necrobiosis (9.7%) y la insuficiencia renal (9.5%).⁹

3.4.1 Morbilidad

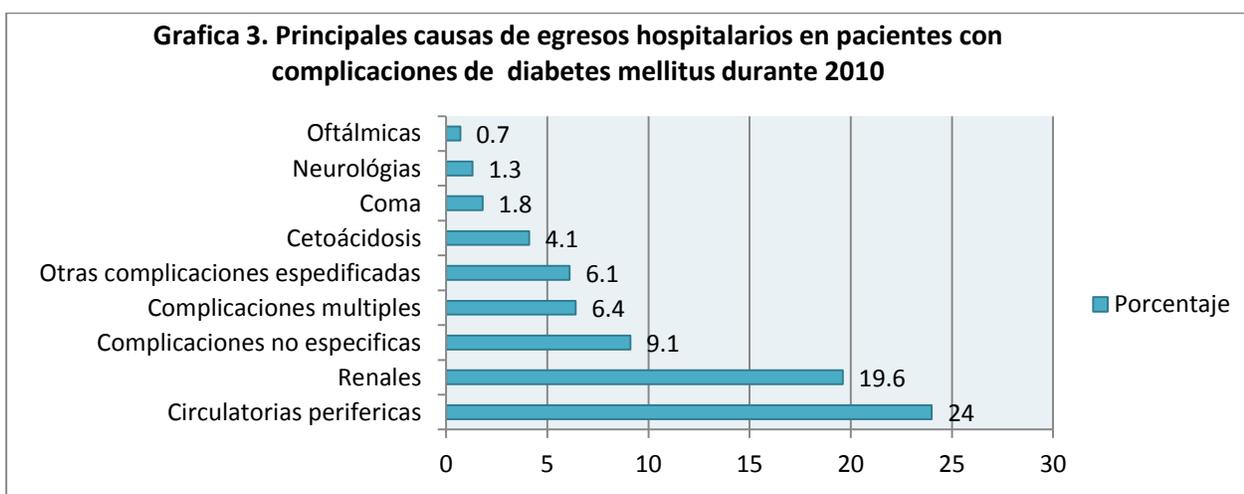
En tanto que durante 2010, la morbilidad hospitalaria por diabetes Tipo I es mayor en la población joven, invirtiéndose este comportamiento a partir de los 25 años, en donde el egreso se debe en su mayoría a la diabetes Tipo II (Tabla 3). Mientras la tasa de morbilidad hospitalaria más alta por diabetes insulino dependiente (Tipo I) se concentra en la población de 70 a 79 años (17 personas por cada 100 mil de ese grupo de edad), para la diabetes no insulino dependiente (Tipo II) se presenta en la población de 75 a 79 años, afectando a 701 personas por cada 100 mil del mismo grupo de edad.¹⁰

Tabla 3. Tasa de mortalidad observada de diabetes mellitus por grupo quinquenal de edad según tipo 2010. Por cada 100 mil habitantes

Grupo quinquenal de edad	Diabetes mellitus insulino dependiente	Diabetes mellitus no insulino dependiente
	(Tipo I)	(Tipo II)
0 a 4	1.05	0.77
5 a 9	3.37	0.75
10 a 14	8.91	2.25
15 a 19	7.17	4.87
20 a 24	5.16	8.16
25 a 29	5.60	13.31
30 a 34	4.95	23.98
35 a 39	3.80	39.60
40 a 44	3.31	75.12
45 a 49	4.64	141.62
50 a 54	6.12	234.66
55 a 59	8.55	347.80
60 a 64	10.88	468.00
65 a 69	12.60	563.25
70 a 74	17.13	620.46
75 a 79	16.78	701.49
80 y más	13.71	594.05

Fuente: SSA. Base de egresados hospitalarios 2010, e INEGI. Censo de Población y Vivienda 2010. Cubos dinámicos. Procesó INEGI

En 2010 del total de egresos hospitalarios debidos a diabetes, se identificaron como las principales complicaciones las circulatorias periféricas (24%) y las renales (19.6%); considerando que algunos pacientes con complicaciones renales terminarán con hemodiálisis y la necesidad de un trasplante, y que algunos protocolos de trasplantes limitan su donación a pacientes que no han demostrado adherencia al tratamiento, como se muestra en la gráfica 3.³



Gráfica 3. Principales causas de egresos hospitalarios en pacientes con complicaciones de diabetes mellitus durante 2010.

Fuente: SSA. Base de egresados hospitalarios 2010

A pesar de que no se trata de una enfermedad de transmisión, la Diabetes mellitus tipo II ha prevalecido en los primeros lugares de las principales enfermedades no transmisibles; y de igual manera su homóloga la diabetes tipo I, ésta subiendo en esta lista emitida anualmente por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (tabla 4).³

Tabla 4. Principales causas de enfermedades no transmisibles por año

Posición	2009*	2010**	2011***
1	Úlceras gastritis y Duodenitis	Úlceras gastritis y Duodenitis	Úlceras gastritis y Duodenitis
2	Hipertensión Arterial	Gingivitis y Enfermedades Periodontales	Gingivitis y Enfermedades Periodontales
3	Gingivitis y Enfermedades Periodontales	Hipertensión Arterial	Hipertensión Arterial
4	Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (Tipo II)	Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (Tipo II)	Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (Tipo II)
5	Asma y estado asmático	Asma y estado asmático	Asma y estado asmático
6	Intoxicación por Picadura de Alacrán	Intoxicación por Picadura de Alacrán	Intoxicación por Picadura de Alacrán
7	Desnutrición Leve	Quemaduras	Quemaduras
8	Quemaduras	Desnutrición Leve	Desnutrición Leve
9	Mordeduras de Perro	Mordeduras de Perro	Mordeduras de Perro
10	Accidentes de Transporte en Vehículo con Motor	Accidentes de Transporte en Vehículo con Motor	Accidentes de Transporte en Vehículo con Motor
11	Enfermedades Isquémicas del Corazón	Enfermedades Isquémicas del Corazón	Enfermedades Isquémicas del Corazón
12	Intoxicación por Ponzón de Animales	Intoxicación por Ponzón de Animales	Violencia Intrafamiliar
13	Intoxicación Aguda por Alcohol	Violencia Intrafamiliar	Intoxicación por Ponzón de Animales
14	Displasia Cervical Leve y Moderada	Displasia Cervical Leve y Moderada	Displasia Cervical Leve y Moderada
15	Enfermedades Cerebro Vasculares	Intoxicación Aguda por Alcohol	Intoxicación Aguda por Alcohol
16	Violencia Intrafamiliar	Enfermedades Cerebro Vasculares	Enfermedades Cerebro Vasculares
17	Peatón Lesionado en Accidente de Transporte	Peatón Lesionado en Accidente de Transporte	Peatón Lesionado en Accidente de Transporte
18	Desnutrición moderada	Desnutrición moderada	Diabetes Mellitus Insulinodependiente (Tipo I)
19	Diabetes Mellitus Insulinodependiente (Tipo I)	Diabetes Mellitus Insulinodependiente (Tipo I)	Desnutrición moderada
20	Enfermedad Alcohólica del Hígado	Enfermedad Alcohólica del Hígado	Enfermedad Alcohólica del Hígado

Fuente: CENAPRECE Publicaciones. Información Epidemiológica de Morbilidad Anuario 2009, 2010 y 2011-Versión Ejecutiva.

* (11) ** (12) *** (13)

Al cierre de la información del 2011 se registraron en México un total de 427 125 casos nuevos de Diabetes mellitus no insulinodependiente (Tipo II). Siendo prevalente en mujeres con una proporción de 1.4 por cada hombre; los grupos etarios con mayor incidencia fueron los de 60 a 64 (1 788.76), 50 a 59 (1 327.99), y 65 y más (1 320.98). Las entidades federativas con mayor número de casos fueron México (13.6 %), Jalisco (7.9 %) y Distrito Federal (7.2 %), las que menos cifras presentaron fueron Colima (0.42 %), Baja California Sur (0.42 %) y Campeche (0.55 %).¹³

3.4.2 Mortalidad

De acuerdo con el INEGI, en el 2010 la tasa de mortalidad observada más alta por diabetes se presentaba en el Distrito Federal (104 casos por cada 100 mil habitantes) seguido de Veracruz (88 casos) y Morelos (87 casos), mientras que las tasas más bajas se registran en Quintana Roo (42 casos por cada 100 mil), Baja California Sur (43 casos) y Chiapas (48 casos). Al analizar la mortalidad a causa de la diabetes por grupos de edad (Tabla 5), se observa que conforme avanza la edad la tasa de mortalidad por diabetes se incrementa; entre la población de 80 años y más, 9 de cada 100 mil personas de ese grupo de edad muere por diabetes Tipo I, en tanto que por la de Tipo II, 667 personas; entre la población de 75 a 79 años, fallecen por la insulino dependiente 7 de cada 100 mil personas de ese mismo grupo de edad y 526 por la diabetes Tipo II.¹⁰

Tabla 5. Tasa de mortalidad observada de diabetes mellitus por grupo quinquenal de edad según tipo 2010, por cada 100 mil habitantes

Grupo quinquenal de edad	Diabetes mellitus insulino dependiente (Tipo I)	Diabetes mellitus no insulino dependiente (Tipo II)
Total	1.18	44.65
1 a 4	0.01	0.01
5 a 9	0.04	0.02
10 a 14	0.15	0.02
15 a 19	0.34	0.08
20 a 24	0.89	0.28
25 a 29	1.46	0.75
30 a 34	1.35	2.37
35 a 39	1.25	5.49
40 a 44	1.07	16.18
45 a 49	1.21	36.18
50 a 54	1.42	71.74
55 a 59	2.82	132.98
60 a 64	2.50	210.72
65 a 69	4.06	302.30
70 a 74	5.82	379.90
75 a 79	7.15	526.46
80 y más	9.05	667.14

Fuente: INEGI. Estadísticas de mortalidad 2010; censo de población y vivienda 2010. Cubos dinámicos. Procesó INEGI

3.5 Diagnóstico de la Diabetes Mellitus

Se puede diagnosticar por tres vías diferentes.

1. Glucosa plasmática en ayunas. Si la glucemia plasmática en ayunas es ≥ 126 mg/dl (7mmol/L)
2. Sintomatología como poliuria, polidipsia, polifagia, astenia y/o pérdida de peso) y una glucemia plasmática en cualquier momento del día y sin relación con ayuno o ingesta previa ≥ 200 mg/dL (11.1mmol/L)
3. Glucemia plasmática a las 2 horas del TSO (Test de Tolerancia Oral a Glucosa) con 75 g de glucosa ≥ 200 mg/dL. Este diagnóstico debe ser confirmado.¹⁴

3.6 El papel de la insulina y los hipoglucemiantes.

3.6.1 Biosíntesis de la insulina

Es sabido que la insulina es la hormona encargada del equilibrio de la glucosa en sangre, esta hormona se produce en las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas. Y como es usual en las proteínas de secreción, el precursor de la hormona (la preproinsulina) lleva un péptido señal que dirige la cadena polipeptídica hacia el interior del retículo endoplásmico, aquí se produce la proinsulina que llega al aparato de Golgi y es empacada en vesículas (conocidas como gránulos beta) en las que tras el rompimiento del péptido se almacena en forma de hexámeros que contienen zinc hasta su liberación.

3.6.2 Efectos de la deficiencia de Insulina

Durante el aumento de la concentración sanguínea de glucosa de 90 mg/dL a 160 mg/dL y aún más (hiperglucemia, o sea nivel aumentado de glucosa sanguínea) se alteran el músculo y en el tejido adiposo, y el hígado los consumidores más importantes de glucosa, Al mismo tiempo se observan una estimulación de la gluconeogénesis, entre otras cosas por el aumento de las proteólisis en el músculo, con lo cual aumenta aún más el nivel de la glucosa en sangre. Si se sobrepasa la capacidad del riñón para reabsorber la glucosa el paciente diabético eliminara glucosa en la orina (**glucosuria**). Es entonces cuando el aumento de la degradación de las grasas por la deficiencia de insulina tiene consecuencias graves. Los ácidos grasos obtenidos en gran cantidad se emplean parcialmente en el hígado para la síntesis de las lipoproteínas (**hiperlipidemia**) y el resto se degrada hasta acetil-CoA. El ciclo del ácido cítrico no puede captar cantidades tan grandes de acetil-CoA, y dado que a partir de ella se producen cuerpos cetónicos (ácido acetoacético y ácido 3-hidroxi-butírico), a pH fisiológico los cuerpos cetónicos liberan protones y por esto los diabéticos tratados en forma insuficiente pueden desarrollar estados graves de acidosis metabólica (**coma diabético**). El aumento sostenido de la glucemia conduce a largo plazo a alteraciones de los vasos sanguíneos (angiopatía diabética), daños renales (nefropatía) y del sistema nervioso, así como también lesiones oculares, por ejemplo la opacificación del cristalino (cataratas), aumento en la presión del ojo (glaucoma), y la cicatrización que provoca el desprendimiento de retina que son los problemas derivados de la retinopatía diabética (daño a los vasos sanguíneos de la retina). El tratamiento estándar incluye el control metabólico estricto de la hiperglucemia, el control de la presión arterial y la normalización de los lípidos séricos, estos tratamientos retrasan la aparición de la retinopatía diabética, así mismo, se emplean tratamientos con fármacos y sistemas de administración, como inyecciones esteroidales peribulbares, inyecciones esteroidales intravitreales, inyección de implantes de liberación sostenida intravitreales.¹⁵⁻¹⁸

3.6.3 Tratamiento no farmacológico de la Diabetes

Dentro del tratamiento para controlar la diabetes la dieta y el ejercicio juegan un papel muy importante ya que pueden retardar e incluso prevenir algunas de las complicaciones asociadas a la diabetes. Por ejemplo con el ejercicio físico se incrementa la actividad física basal por contracción muscular-esquelética, provocando un gasto energético superior al gasto energético en reposo, así disminuyendo el sobrepeso se disminuye la posibilidad de desarrollar diabetes tipo II. Antes de iniciar un programa de actividad física se debe considerar la edad y situación actual de la enfermedad, se recomienda 150 minutos semanales de ejercicio aeróbico de moderada intensidad distribuidos en al menos 3 días a la semana, sin más de dos días seguidos sin realizar actividad física.⁴⁷

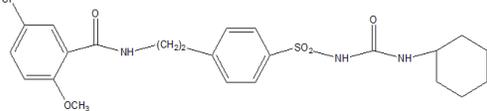
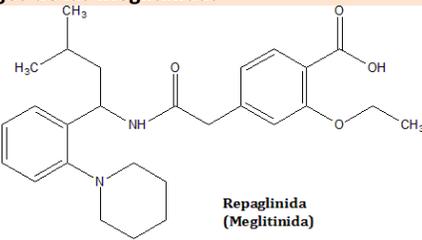
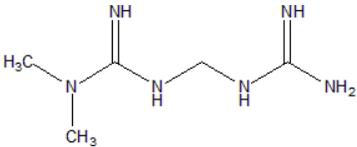
El tratamiento médico nutricional (TMN) es el término usado por la Asociación Americana de Diabetes (ADA por sus siglas en inglés) para describir la mejor relación y coordinación entre la ingesta calórica y el resto de los aspectos terapéuticos de la diabetes. Los objetivos del TMN son:

- Alcanzar y mantener los niveles de glucosa, lípidos y presión arterial en niveles recomendados o en rango más cercano posible y sin efectos adversos.
- Prevenir o retrasar el desarrollo de complicaciones crónicas.
- Intentar satisfacer las necesidades individuales y evitar las dietas rígidas de castigo, dietas “mágicas” y dietas sin evidencia científica.
- Coordinar la ingesta calórica temporal en relación con la insulinoterapia.
- Encaminar la reducción de peso, e individualizar las necesidades especiales de jóvenes con diabetes tipo I o tipo II, embarazo, lactancia y diabéticos de mayor edad.

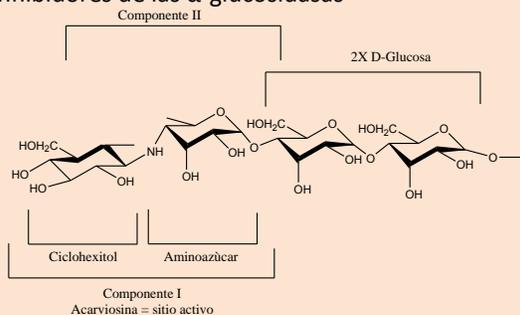
En los casos en los que el ejercicio y el tratamiento nutricional se ven superados por la diabetes, entonces debe recurrirse a los tratamientos farmacológicos para controlar los niveles de glucosa en sangre.⁴⁷

3.6.4 Tratamiento Farmacológico de la Diabetes: Fármacos Hipoglucemiantes

Los hipoglucemiantes orales son una serie de compuestos antidiabéticos con estructuras químicas y mecanismos de acción diferentes, como su nombre lo indican son administrados por vía oral, teniendo efecto sobre la reducción de la glucemia y de los niveles de hemoglobina glucosilada entre estos fármacos encontramos los siguientes:

Tabla 6. Fármacos Hipoglucemiantes	
Fármaco	Descripción
<p>Sulfonilureas</p> 	<p>Las sulfonilureas ejercen su efecto estimulante sobre la secreción de insulina mediante la unión a un receptor de la membrana, denominado receptor de sulfonilureas (SUR), bloqueando los canales de K_{ATP} en las células β y estimulando los efectos que la glucosa induce sobre la secreción de insulina.¹⁹</p>
<p>Análogos de las Meglitinidas</p>  <p style="text-align: center;">Repaglinida (Meglitinida)</p>	<p>La repaglinida y la nateglinida son fármacos análogos de la meglitinidas; la repaglinida es un derivado de la porción no sulfonilurea de la glibenclamida, actúa cerrando los canales de K_{ATP}.</p> <p>La nateglinida estimula la secreción de insulina mediante el bloqueo de los canales K_{ATP} en las células β pancreáticas, uniéndose a la unidad SUR1, estimula la liberación de insulina de manera más rápida, pero menos sostenida que otros antidiabéticos.¹⁹</p>
<p>Biguanidas</p> 	<p>La metformina disminuye los niveles de glucosa en plasma por acciones extrapancreáticas ya que no actúa directamente sobre la célula β, sino que reduce la gluconeogénesis hepática y, en menor grado, la glucogenólisis, potencia los efectos de la insulina en los tejidos periféricos (adiposo y muscular) y disminuye la absorción intestinal de glucosa. Sensibiliza los tejidos a la acción de la insulina, reduciendo la resistencia a ella en los pacientes diabéticos.¹⁹</p>

Inhibidores de las α -glucosidasas



La acarbosa y el miglitol son los preparados comerciales, que al inhibir las α -glucosidasas del borde de la pared intestinal retrasan la digestión de los hidratos de carbono complejos y disacáridos a monosacáridos fácilmente absorbibles de esta manera al retrasar la digestión de los hidratos de carbono permiten que el material no digerido pase al intestino grueso; como la entrada de glucógeno en la circulación sistémica esta en latencia, la célula β se encuentra en mejores condiciones de responder liberando insulina frente a una concentración de glucosa menos elevada.¹⁹

Glitazonas



Actualmente solo se emplean la rosiglitazona y la pioglitazona, son agonistas del PPAR γ , estos fármacos difunden libremente en las células para unirse al receptor, preferentemente en los adipocitos, pero también en el musculo e hígado. Están indicadas para diabetes tipo II cuando no se logra un control glucémico adecuado a pesar de seguir un programa de dieta y ejercicio.¹⁹

3.6.5 Efecto antihiper glucémico

El efecto antihiper glucémico es otro de los efectos que presentan algunos fármacos, consiste en evitar el alto nivel de azúcar en la sangre que se presenta cuando el cuerpo produce muy poca insulina o cuando no es capaz de usar dicha insulina de la manera apropiada. El estado hiper glucémico se caracteriza por síntomas como visión borrosa, piel seca, necesidad de consumir líquidos, abatimiento corporal y necesidad de orinar entre otros efectos dependiendo de los niveles de glucosa en sangre.²⁰⁻²³

Los fármacos antihiper glucémicos actúan por los siguientes mecanismos:

- Inhibidores de la aldosa-reductasa
- Catalizadores del shunt de las pentosas
- Inhibidores de la glicación
- Agentes específicos de actuación a nivel renal.

Diversos estudios han demostrado que diferentes plantas presentan este efecto gracias a sus metabolitos; como es el caso de los extractos acuosos de "sacna-ché" o "palo de arco" (*Colubrina elliptica*), de los extractos acuosos de "sulfatillo" (*Witeringia solanacea*), de los extractos de acetato de etilo de *Hypericum perforatum*, el extracto etanólico de *Moringa stenopetala* entre otros. Dentro de los métodos para evaluar el efecto hipoglucémico, se emplean glibenclamida (gliburida) y/o tolbutamida (hipoglucemiantes) posteriormente a la administración de glucosa, monitoreando en sangre la cantidad de glucosa presente y comparándola con los niveles de un grupo paralelo al que se aplicó la decocción de la planta.²⁰⁻²³

3.6.6 Efecto antidiabético

El efecto antidiabético corresponde al que presentan los fármacos que evitan el aumento del nivel de azúcar en la sangre que se presenta cuando los organismos presentan diabetes tipo I, pues son organismos que necesitan la administración de insulina para mantener estables los niveles de glucosa en sangre. Entre los

estudios realizados para la evaluación del efecto antidiabético también se encuentran la evaluación de algunos productos naturales como son *Ligistrum lucidum* una planta tradicional china conocida como “Nv zhen zi” que como muchas otras es evaluada en modelos animales los cuales han sido sometidos a tratamiento por inyección intraperitoneal con clorhidrato de aloxan, un fármaco que produce daño en las células β de los islotes de Langerhans, obteniendo la pérdida en la producción de insulina. De esta manera se estudian las sustancias que presenten efecto antidiabético frente al efecto real provocado por la diabetes tipo I. A la par de *L. lucidum*, otros productos de origen natural son evaluado como el aceite de *Junglans regia* planta originaria de africa, *Cinnamomum verum* presente en diversas áreas de Asia (India, China, Korea y Rusia), y en México *Equisetum myriochaetum*, *Cecropia obtusifolia*, *Croton reflexifolius* entre otras son plantas endémicas de la región que asisten a la población en general en el tratamiento de la diabetes. ^{24-27,}

39.

3.7 La medicina tradicional: Plantas medicinales y sus extractos

La Organización Mundial de la Salud describe la medicina tradicional como el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales. Las plantas medicinales son especies vegetales que tienen propiedades medicinales curativas o preventivas. Pueden ser plantas nativas o exóticas, obtenidas en forma silvestre mediante su recolección o su cultivo y representan el tratamiento más común en la medicina tradicional y la medicina complementaria en todo el mundo. De aquí nace el concepto de medicamentos herbolario o herbario que abarca hierbas, material herbario, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados y que contienen como principios activos partes de plantas, u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos. ^{30,31}

Los materiales herbarios comprenden, además de hierbas, jugos frescos, gomas, aceites fijos, aceites esenciales, resinas y polvos secos de hierbas. En algunos países esos productos se pueden elaborar mediante diversos procedimientos locales, como el tratamiento con vapor, el tostado o el rehogado con miel, bebidas alcohólicas u otros materiales. Mientras que las preparaciones herbarias son la base de los productos herbarios acabados y pueden componerse de materiales herbarios triturados o pulverizados, o extractos, tinturas y aceites grasos. Se producen por extracción, fraccionamiento, purificación, concentración y otros procesos biológicos o físicos. También comprenden preparaciones obtenidas en macerados o calentando materiales herbarios en bebidas alcohólicas o miel. Así también la medicina tradicional posee una actividad terapéutica que se refiere a la prevención, el diagnóstico y el tratamiento satisfactorios de enfermedades físicas y mentales, el alivio de los síntomas de las enfermedades y la modificación o regulación beneficiosa del estado físico y mental del organismo; provenientes de los principios activos. En el caso de los medicamentos herbarios cuyos principios activos hayan sido identificados, se debe normalizar su preparación, si se dispone de métodos analíticos adecuados, para que contengan una cantidad determinada de ellos, en el caso de que no se logre identificar los principios activos, se considera que todo el medicamento herbario es un solo principio activo. ³⁰⁻³¹

3.8 Plantas medicinales en México

México es un país reconocido por su riqueza en plantas medicinales; es tal el alcance de las plantas medicinales mexicanas que son exportadas a otros países para su uso, como es el caso de Alemania, que comercializa productos para el tratamiento de la diabetes basados en especies como el nopal (*Opuntia sp*) y el Coplachi. (*Hintonia sp*). ³²

De acuerdo con el Departamento de Biología Celular de la Facultad de Ciencias de la UNAM, en una revisión hecha en el año 2005, México contaba con 306 especies empleadas popularmente en el tratamiento de la diabetes, entre las que destacan *Cecropia obtusifolia*, *Equisetum myriochaetum*, *Acosmium panamense*, *Cucurbita ficifolia*, *Agarista mexicana*, *Brickellia veronicaefolia*, *Parmentiera aculeata*, todas con efecto sobre la diabetes, sobresaliendo su toxicología, la farmacocinética de los componente activos así como su metabolismo.^{32,36}

Wereque (*Ibervillea sonora*)

Es uno de los remedios más utilizados en el tratamiento de la diabetes mellitus, tradicionalmente la raíz seca se hierve en agua, para ser consumida por personas que tienen este padecimiento, sin embargo ha demostrado en estudios con ratones, que la actividad hipoglucémica de *Ibervillea sonora* es causada por sustancias que existen naturalmente en la raíz y no debido a transformaciones inducidas por el calentamiento. Ha demostrado ausencia de signos de toxicidad en la administración de dosis altas del extracto.³³

Guarumbo (*Cecropia obtusifolia*)

Comúnmente llamada "Guarumbo", "Chancarro" y "hormiguillo" presente en el estado de Hidalgo; que ha mostrado efecto analgésico, anti-inflamatorio, antihipertensivo, es un relajante muscular y presenta efectos depresores del SNC, siendo su efecto más conocido el efecto hipoglucémico, la forma tradicional de consumo consiste en hervir la hoja seca en agua, para ser consumida varias veces al día como "agua de uso" (agua que se consume normalmente todo el día).³⁴

Guazima (*Guazuma ulmifolia*)

Es un miembro de la familia de *Sterculiaceae* es utilizada como remedio popular por su acción antimicrobiana, antioxidante y antihipertensiva; se emplean como remedio para enfermedades renales, gastrointestinales, fiebre y diabetes. Dentro de su actividad gastrointestinal se encuentra la protección de la mucosa gástrica contra el efecto perjudicial de los AINES principalmente por mecanismo anti-inflamatorios y de captación de radicales libres.⁴⁴

Tronadora (*Tecoma stans*)

Conocida como "tronadora", "huiztontli" o "huiztonxochitl" se utiliza en México y América central para la diabetes y el control del trastorno urinario, presenta ácido clorogénico que ha demostrado efectos antidiabéticos anteriormente, así como varios frutos que han informado de las actividades contra la diabetes en los extractos de sus hojas; por lo que es ampliamente utilizado por la población como una alternativa o tratamiento complementario para la diabetes.³⁷

Cola de caballo (*Equisetum laevigatum*)

Conocida comúnmente como cola de caballo o "tuti" en Chiapas, se le emplea para tratar diversos padecimientos renales como dolor de riñón, retención de orina y disolución de cálculos renales. Asimismo, es útil en trastornos digestivos tales como dolor de estómago, cálculos biliares, en úlceras y afecciones del hígado; en otros malestares como dolor de espalda, garrotillo, cansancio de piernas, para purificar la sangre, curar artritis y várices, aliviar padecimientos menstruales y en casos de sordera.³⁸

Alcachofa (*Cynara scolymus*)

Originaria de la región Mediterránea se presenta en climas semi-secos. Es utilizada en el tratamiento de la bilis y la diabetes, para lo cual se bebe la cocción de las flores y hojas; así mismo es empleado como diurético, o para eliminar cálculos biliares y como estimulante del apetito, contra el empacho y las enfermedades de la vesícula.³⁸

El género *Croton*

Dentro de la familia *Euphorbiaceae* se encuentra el género *Croton* distribuido en regiones tropicales y subtropicales junto a más de 1300 especies de árboles, arbustos y hierbas. Algunas de las especies que se han identificado (39 especies en Rio de Janeiro) se emplean en la medicina tradicional, en tratamientos para diversos padecimientos como cáncer, estreñimiento, diabetes, problemas digestivos, disentería, heridas externas, fiebre, hipercolesterolemia, hipertensión, inflamación, infecciones intestinales, paludismo, dolor, úlceras y pérdida de peso; generalmente asociado a las propiedades medicinales del género *Croton* se encuentra la presencia de látex o especies aromáticas entre los cuales existen algunos compuestos volátiles. Entre los componentes con actividad biológica que el género *Croton* presenta se encuentran: los diterpenoides, alcaloides, diferentes tipos de diterpenos (ésteres de forbol, clerodano, labdano, kaurano, trachilobano y flavonoides).⁴⁰⁻⁴²

Actividad biológica de algunas especies del género *Croton*

Croton zambesicus

Es una planta medicinal conocida como mata de tigre proveniente de los pueblos y aldeas de Nigeria ha demostrado actividad antimicrobiana, efecto antihipertensivo, actividad sobre infecciones urinarias (antibiótico) así como para el tratamiento de la fiebre asociada con la malaria, recientemente ha sido estudiado el efecto del extracto etanólico en ratones por su aumento en la terapia de fertilidad al aumentar la motilidad y progresividad de los espermatozoides.⁴³

Croton argyratu

Es un árbol pequeño o mediano presente en toda Malasia, Birmania y Bali localmente es conocido como “hamba raja”, “cheret budak”, “semelit alcalde” o “kar cheret budak” debido a que sus hojas son blancas o marrón plateado también se le conoce como “Silver Croton”; ha sido evaluado su extracto de hojas por su efecto analgésico ante el dolor producido por formalina, placa caliente y la prueba de coletazo, además de su alto contenido de antioxidantes.⁴⁴

Croton reflexifolius

El *Croton reflexifolius* es una planta medicinal que se encuentra en la Huasteca Hidalguense y es conocida localmente como “Huilocuahuitl”. Las hojas son usadas comúnmente como infusión para tratar la tos, diabetes y ulcera gástrica. Se ha descrito que el extracto de diclorometano de las hojas de esta planta, desarrollaron actividad relajante del músculo liso de la tráquea de cobayo, lo cual resulta interesante como una alternativa natural en el tratamiento de enfermedades respiratorias.³⁹

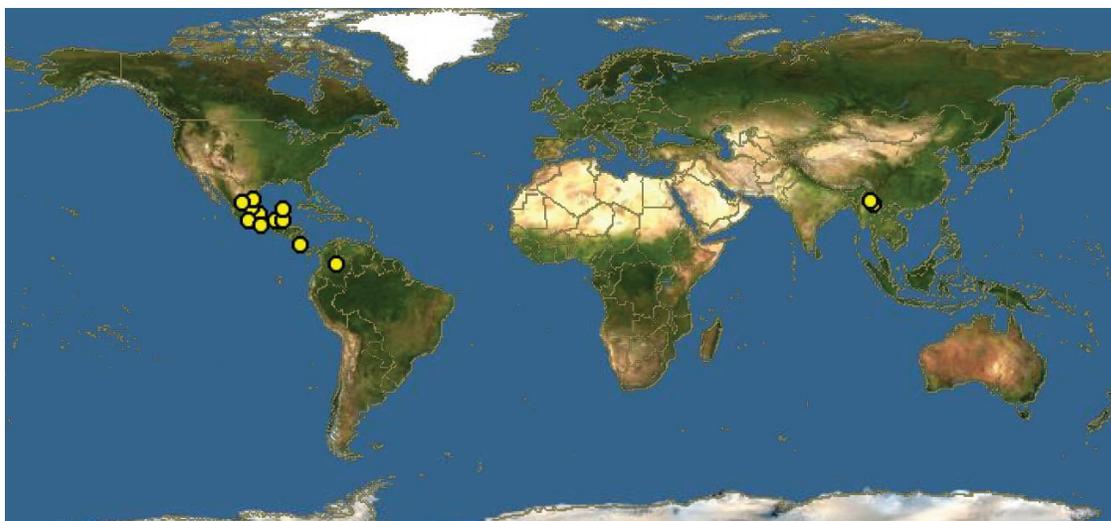


Figura 2. Distribución de *Croton reflexifolius* en el mundo
Fuente: www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Croton+reflexifolius

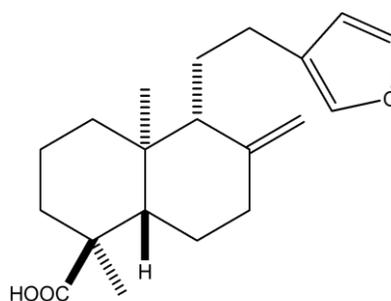


Figura3. Estructura del Ácido Poliáltico

Entre las moléculas que contiene el *C. reflexifolius* se encuentra el ácido poliáltico que ha demostrado ser el responsable de la actividad gastroprotectora en rata Wistar misma molécula que por poseer similitudes estructurales a algunas otras moléculas empleadas como hipoglucemiantes podría su estructura podría presentar este efecto. En base al conocimiento tradicional del empleo de la planta de *Croton reflexifolius* como “aguas de uso” en el tratamiento de la diabetes y que existe muy poca información científica sobre su efectividad en el tratamiento de esta enfermedad se plantea el desarrollo del siguiente trabajo para sentar las bases de futuras investigaciones partiendo de un conocimiento ancestral.⁴⁵

4. Planteamiento del problema

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que aproximadamente 347 millones de personas padecen diabetes mellitus en el mundo, mientras que la Federación Internacional de la Diabetes (IDF) estima que en 2011, dicho número asciende a 366 millones y proyecta que para 2030 será de 552 millones de personas. Así mismo México se encuentra en el sexto lugar de personas que padecen esta enfermedad. En México el INEGI indica que en el Distrito Federal por cada 100 mil habitantes 104 padecen diabetes mellitus, eso tan solo en Distrito Federal aun que en otros estados el número de padecimientos en menor, este va en aumento en todo el país.

De manera que el desarrollo de alternativas para paliar o tratar la diabetes mellitus es cada día una necesidad aun mayor, por lo que el uso de plantas medicinales de la medicina tradicional se vuelve una opción a la cual recurrir, dentro de las plantas que se emplean en el tratamiento de la diabetes en la Huasteca Hidalguense se encuentra el "Huilocuahuitl" (*Croton reflexifolius*) constituyendo una alternativa de salud natural y de bajo costo para los pobladores de esta región de México y que podría ser en lo futuro un tema de investigación encaminado en la obtención de un principio activo de origen natural para el tratamiento de la diabetes, por lo que en este trabajo se pretende desarrollar el estudio fitoquímico que encamine a establecer el origen de las propiedades terapéuticas de esta planta y de ser posible establecer alguna de las moléculas responsables de dicho efecto; sentando el precedente para futuras investigaciones enfocadas en el desarrollo de terapias para el padecimiento de la diabetes mellitus.

5. Hipótesis

Con base al uso tradicional del **"Huilocuahuitl"** (*Croton reflexifolius*) en el tratamiento de la diabetes, se espera que a partir de los extractos de maceración de *Croton reflexifolius* evaluados en ratas Wistar normoglicémicas y diabéticas, se obtengan las fracciones activas terapéuticamente y se aísle el compuesto responsable de dicha actividad.

6. Objetivos

- ☛ Desarrollar el estudio fitoquímico de *Croton reflexifolius* empleando ratas Wistar normoglucémicas y diabéticas como modelo animal para determinar el extracto con mayor actividad terapéutica.
- ☛ Evaluar los extractos obtenidos de *Croton reflexifolius* para encontrar el extracto de mayor actividad.
- ☛ Evaluar las fracciones obtenidas de la percolación del extracto de mayor actividad hipoglucemiante para aislar el compuesto responsable de la actividad terapéutica.
- ☛ Evaluar el extracto y la fracción activa de *Croton reflexifolius* en ratas diabéticas para demostrar el efecto antidiabético.
- ☛ Purificar la fracción hipoglucémica y diabéticamente activa para identificar la molécula responsable de la actividad terapéutica

7. Diseño experimental

Tabla 7. Diseño experimental	
Tipo de estudio:	Experimental
Población de estudio	70 Ratas Wistar macho de 170-220 g de peso
Variables	
Independiente	-Extractos de Hexano, CH ₂ Cl ₂ y Metanol. -Glibenclamida como control positivo. -Agua salina como control negativo.
Dependiente	Concentración de Glucosa en sangre medidos a través de un glucómetro comercial (One Touch ®)
Criterios	
Inclusión	-Ratas Wistar macho sanas (normoglicémicas) -Ratas Wistar macho con diabetes inducida. -Ratas en peso (170-220 g)
Exclusión	-Rata fuera de rango de peso -Muestras tomadas fuera de tiempo
Eliminación	-Ratas que no desarrollan diabetes

El estudio fitoquímico se inició con la colecta del material vegetal de *C. reflexifolius*, seguido de la extracción de sus componentes por medio de disolventes de baja, mediana y alta polaridad, posterior se realizó la evaluación de los extractos obtenidos en un modelo de rata normoglicémica (ratas sanas) para determinar el extracto de mayor actividad terapéutica, el cual fue usado en la cromatografía de columna para obtener seis fracciones que nuevamente fueron evaluadas en un modelo de ratas sanas, la fracción de mayor actividad terapéutica fue separada por cromatografía en columna y el compuesto mayoritario obtenido fue evaluado en el modelo de ratas sanas; así mismo el extracto de mayor actividad, la fracción de mayor actividad y el compuesto purificado fueron evaluados en el modelo de rata diabética, por último el compuesto purificado fue identificado por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) Diagrama 1.

El proceso de evaluación en el modelo animal se realizó con tres individuos, más un control positivo y control negativo para cada extracto o fracción, Diagrama 2

Diagrama 1. Proceso general del estudio fitoquímico

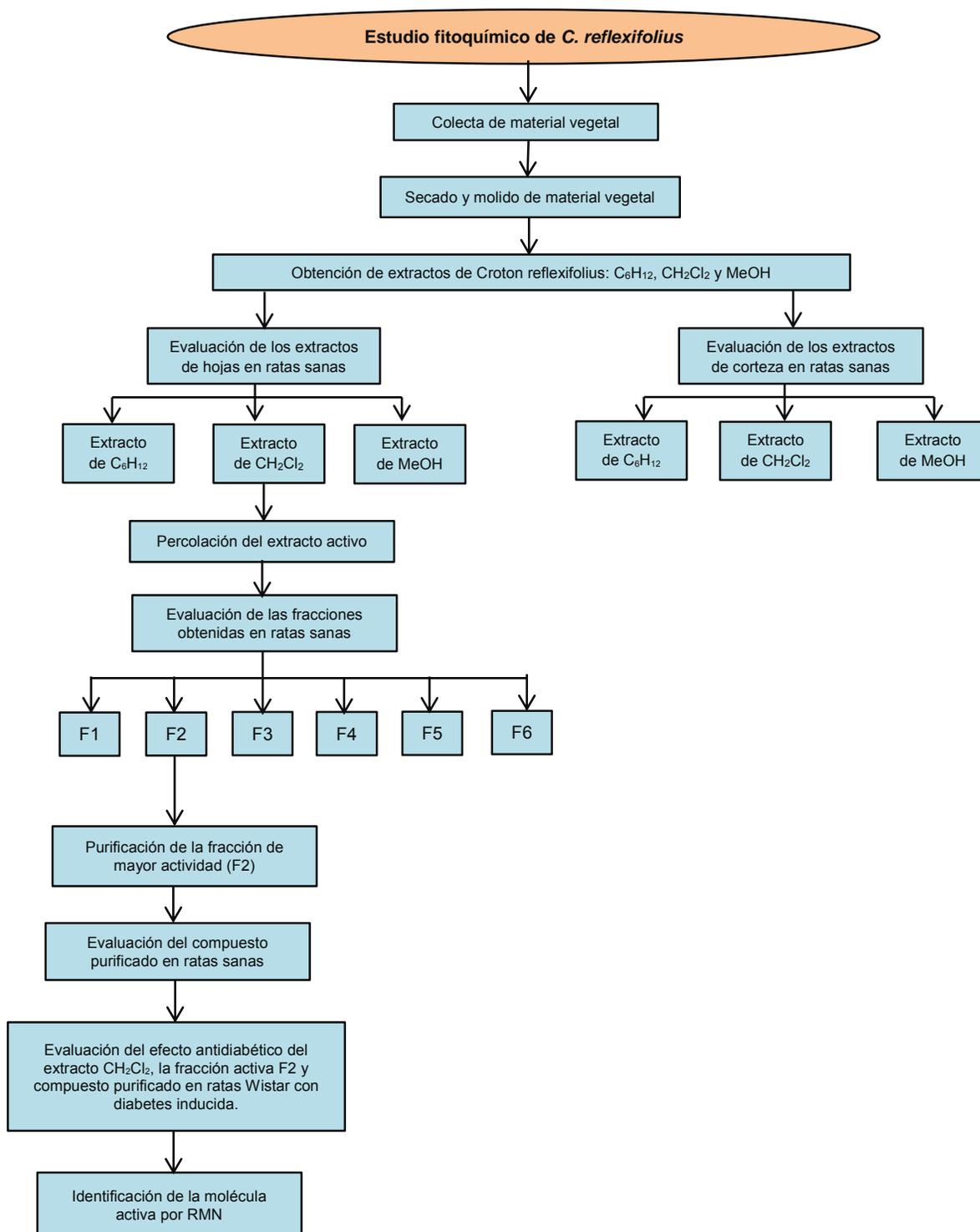
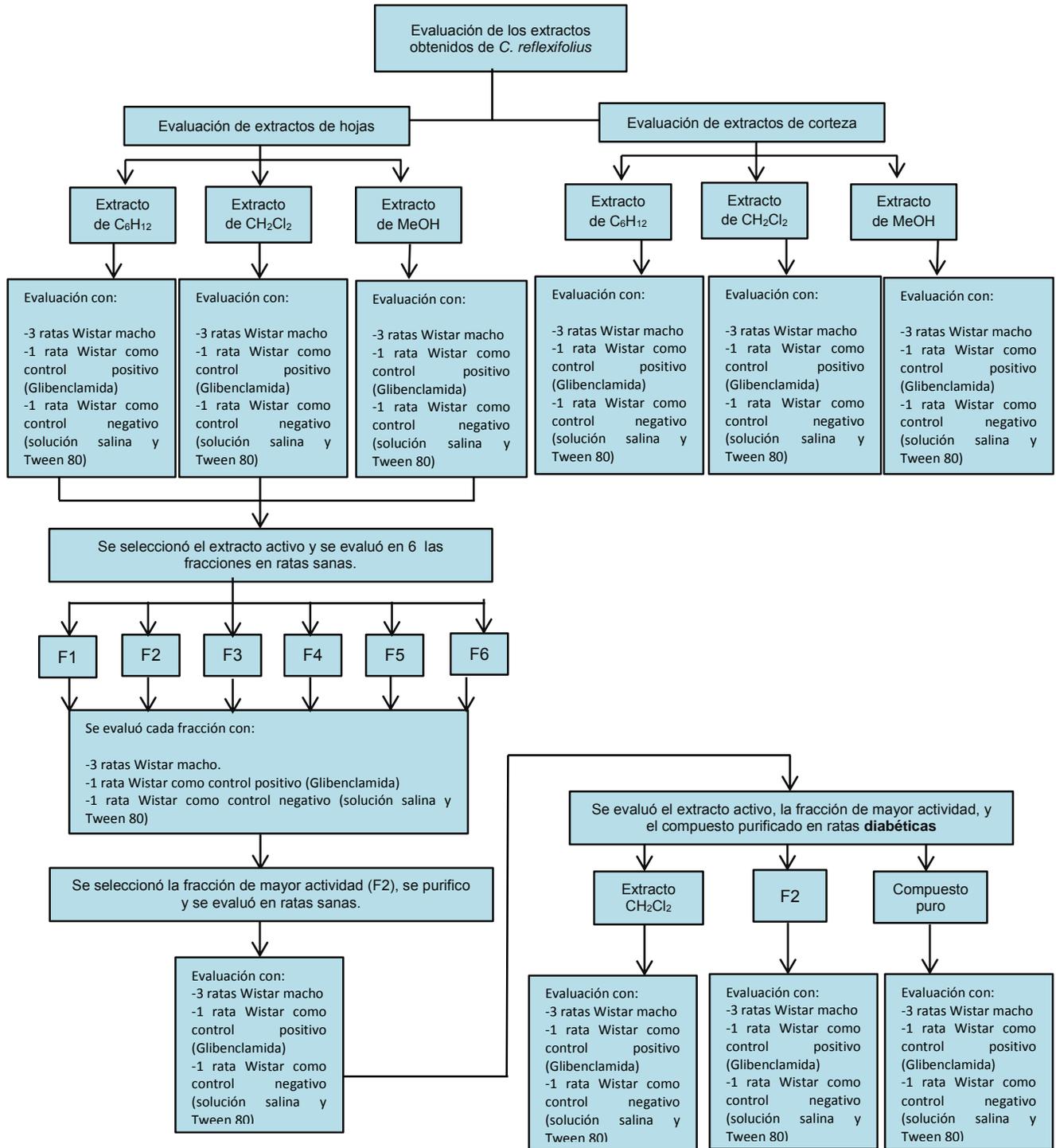


Diagrama 2. Proceso general de la evaluación del efecto terapéutico



8. Material y Método

Material vegetal

Se recolectaron las hojas y el tallo de *Croton reflexifolius*, en el estado de Hidalgo. Se colectaron aproximadamente 20 kg de la parte aérea y una muestra fue depositada en el herbario Jorge Hernández Espinoza del Área de Biología, Departamento de Preparatoria Agrícola en la Universidad Autónoma de Chapingo

Preparación de extractos

Se emplearon 12 Kg de la parte aérea así como del tallo. Los extractos se obtuvieron vía maceración empleando hexano (3 veces, 12 L, 3 días), posteriormente con CHCl_3 (3 veces, 12 L, 3 días), y finalmente con MeOH (3 veces, 12 L, 3 días). Los disolventes fueron evaporados al vacío empleando un rota vapor (Büchi Modelo R111, Waterbath B-461).

Animales

Se emplearon ratas Wistar macho, de 170 a 220 g de peso corporal y alimentadas con dieta normal (Nutricubos Purina ^{MR}), las ratas fueron mantenidas y cuidadas en condiciones normales en el Bioterio del Área de Biología del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) a temperatura ambiente (23 a 25° C), humedad y ciclos de luz y oscuridad ambiental de 12 horas por 12 horas. Previo al estudio las ratas fueron sometidas a 18 horas en ayuno, con libre acceso al agua. El uso y manejo de estos animales se llevó a cabo conforme a la Norma Oficial Mexicana para su Cuidado y Manejo (NOM-062-ZOO-1999) y de acuerdo con las reglas internacionales relativas al cuidado y manejo de animales de laboratorio.

Efecto hipoglucémico de extractos

Se valoró el efecto hipoglucémico de los extractos obtenidos de hexano, CH_2Cl_2 y MeOH en ratas Wistar normoglicémicas. Los extractos fueron suspendidos en Tween 80 (0.05 %), La dosis evaluada fue de 300 mg/kg de peso corporal, empleando como control positivo (glibenclamida), y como blanco o control negativo una solución de agua salada y Tween 80 consistente con el vehículo empleado en los extractos. Se utilizaron lotes de 3 individuos por tratamiento y un total de 5 lotes por cada extracto incluyendo el lote control positivo y negativo. Las dosis de los extractos fueron administradas por vía oral (0.5 mL/100 g) a ratas en ayuno de 18 horas, mediante una sonda flexible. El efecto hipoglucémico se evaluó mediante con el método de la glucosa oxidasa empleando un glucómetro comercial modelo One Touch ultra II (American Life Scan Co., Milpitas, CA, USA). Las muestras de sangre fueron obtenidas por medio de un corte en la parte final de la cola (vena caudal) de la rata, sumergiendo previamente la cola en baño de agua a $39\pm 1^\circ\text{C}$ durante 30 s. Los niveles de glucosa basal en los animales fueron medidos antes de administrar los extractos y después de ser administrados en los siguientes intervalos de tiempo: 0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0 y 9.0 h.

Percolación del extracto de mayor actividad

El extracto de mayor actividad (Aprox. 50 g) obtenido de la parte aérea de *C. reflexifolius* fue sometido a una percolación empleando una columna empacada con gel de sílice (0.063–0.200 mm, 250 g) y empleando como eluyente 1 L de hexano (F1), 1 L de hexano/AcOEt en proporción (9:1) (F2), 1L de hexano/AcOEt en proporción (7:3) (F3), 1 L de hexano/AcOEt en proporción (1:1), (F4), 1 L de acetato de etilo (F5) y 1 L de Metanol (F6). Las fracciones obtenidas fueron evaluadas en ratas Wistar normoglicémicas (sanas), utilizando 6 lotes de ratas cada uno con 3 individuos, más un control positivo y negativo. ³⁴

Purificación de la fracción de mayor actividad

Una parte de la fracción más activa (Aprox. 0.5 g) obtenido de la parte aérea de *C. reflexifolius* se le realizó a una cromatografía en columna, empleando una columna empacada con gel de sílice (0.063–0.200 mm, 50 g) hasta separa y obtener compuestos puros, utilizando como eluyente hexano (1.1 L, F1), hexano/EtOAc (9:1, 1 L, F2), hexano/EtOAc (7:3, 1 L, F3), hexano/EtOAc (1:1, 1 L, F4), acetato de etilo (EtOAc) (1 L, F5) y Metanol (1 L, F6). Del compuesto obtenido fue analizado el espectro de infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Inducción de Diabetes a ratas Wistar mediante un tratamiento con Aloxan (lesión pancreática)

Para evaluar el efecto antidiabético de *Croton reflexifolius* se administró Clorhidrato de Aloxan (Sigma Aldrich^{MR}) a un grupo de 20 ratas Wistar, en una concentración de 200 mg/kg de peso corporal. Los niveles de glucosa de las ratas administradas fueron monitoreados con el método de la glucosa oxidasa empleando un glucómetro modelo One Touch ultra II (American Life Scan Co., Milpitas, CA, USA). Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción con lanceta de la parte final de la cola (vena caudal) de la rata, sumergiendo previamente la cola en baño de agua a $39\pm 1^\circ\text{C}$ durante 30 s. Las ratas fueron señaladas como diabéticas cuando su nivel de glucosa sobrepaso los 200 mg/dL.

Evaluación del efecto antidiabético

El efecto antidiabético fue evaluado tanto para el extracto de CH_2Cl_2 , la fracción F2 que demostró mayor actividad hipoglucémica y para el compuesto en mayor proporción obtenido de la columna de percolación, a una concentración de 300 mg/kg de peso. Los grupos fueron conformados por 3 individuos más el control positivo (glibenclamida) y un control negativo o blanco. Las dosis evaluadas fueron administradas por vía oral (0.5 mL/100 g) con ratas en ayuno de 18 horas, mediante una sonda flexible.

El efecto hipoglucémico se evaluó con el método de la glucosa oxidasa empleando un glucómetro modelo One Touch ultra II (American Life Scan Co., Milpitas, CA, USA). Las muestras de sangre fueron obtenidas por medio de un corte de la parte final de la cola (vena caudal) de la rata, sumergiendo previamente la cola en baño de agua a $39\pm 1^\circ\text{C}$ durante 30 s. Los niveles de glucosa basal en los animales fueron medidos antes de administrar los extractos y después de ser administrados a los siguientes intervalos de tiempo: 0, 1.5, 3, 5, 7 y 9.0 h.

Efecto hipoglucemiante de la glibenclamida

Para corroborar el efecto hipoglucemiante experimentado por los grupos de animales en los tratamientos, se incluyó un experimento adicional consistente en la observación y medición del efecto de un fármaco conocido (control positivo), en este caso se empleó glibenclamida como agente hipoglucemiante de uso común en humanos. Este fármaco fue suspendido en Tween 80 (0.05 %). Las dosis evaluadas fueron: 10, 100 y 300 mg/kg de peso corporal, más el control, consistente en el vehículo de agua destilada y tween 80. Se utilizarán lotes de 3 individuos por tratamiento y un total de 4 lotes por cada extracto incluyendo el lote de control. Las dosis de glibenclamida fueron administradas por vía oral (0.5 mL/100 g) a ratas en ayuno de 18 horas, mediante una sonda flexible. Los niveles de glucosa de los animales fueron medidos antes de administrar la glibenclamida y posteriormente a ser administrada a los siguientes intervalos de tiempo: 0, 1.5, 3, 5, 7 y 9.0 h. En todos los casos de evaluación en el modelo animal se calculó el porcentaje de variación de los datos para normalizar las concentraciones de glucosa.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron en un análisis de varianza (ANOVA) como el promedio \pm la desviación estándar, empleando la prueba F de Fisher al 95% de confianza al tiempo de mayor actividad hipoglucémica durante el periodo del estudio, para identificar la similitud de los extractos y fracciones con la glibenclamida como fármaco control.

9. Resultados

Caracterización de la muestra.

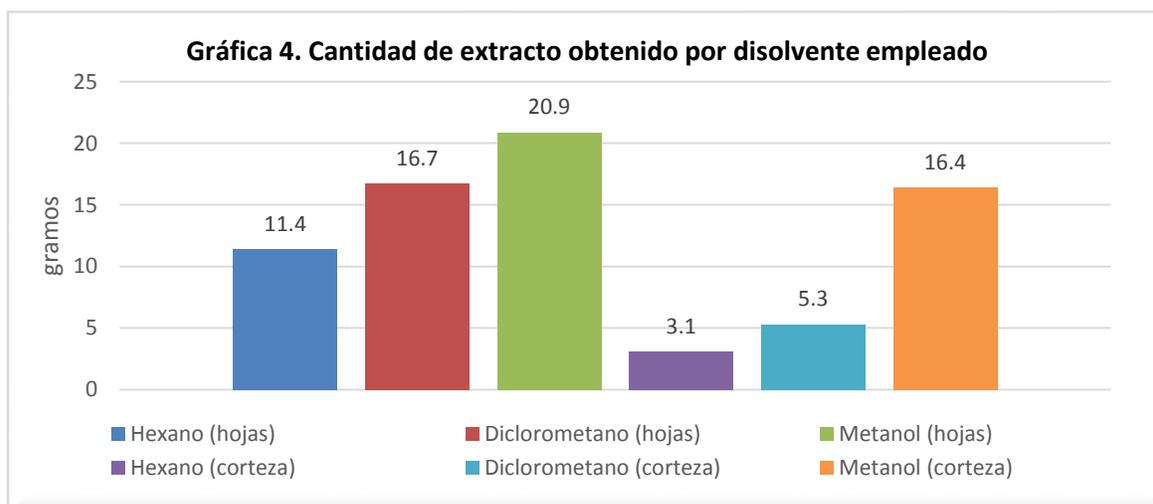
Se recolecto una muestra de material vegetal de hojas largas y puntiagudas con forma de corazón en la parte baja de la hoja, presentaba pequeños puntos blancos por encima de la hoja y nervios realzados. Esta muestra fue caracterizada por la M. en C. Ernestina Cedillo como *Croton reflexifolius* y depositada en el Herbario Jorge Hernández Espinoza del área de biología del departamento de Preparatoria Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo.

Tabla 8. Información taxonómica de <i>Croton reflexifolius</i>	
Reino	<i>Plantae</i>
Phylum	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Euphorbiales</i>
Familia	<i>Euphorbiaceae</i>
Genero	<i>Croton</i>
Especie	<i>reflexifolius</i>
Nombre científico	<i>Croton reflexifolius</i>




Extractos obtenidos de la maceración de *C. reflexifolius* hojas y corteza.

En la gráfica 4 se muestran las cantidades de extracto obtenido por disolvente empleado, se observa que de la maceración de hojas y corteza en el caso del metanol se obtuvo el mayor rendimiento siendo mayor la cantidad obtenida en hojas que en corteza para todos los casos.



Evaluación del efecto hipoglucémico de los extractos obtenidos de *C. reflexifolius* de hojas y corteza a las 7 y 9 horas de tratamiento, empleando ratas Wistar sanas

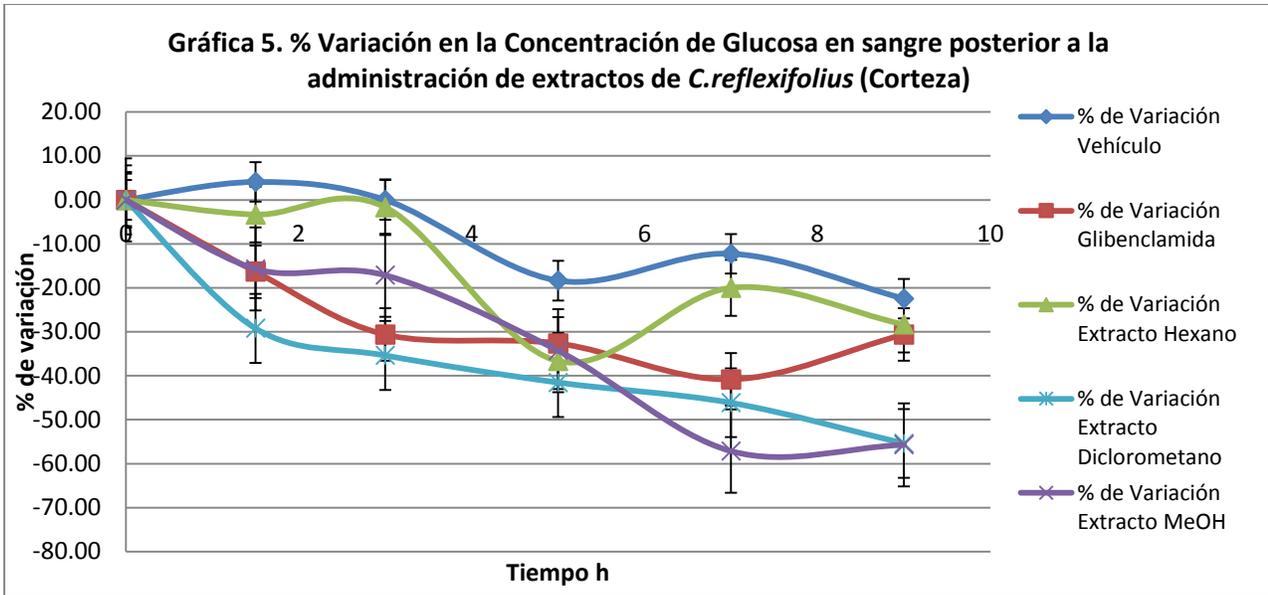
En la tabla 9 se muestran los tiempos de 7 y 9 horas de la evaluación en el modelo animal junto con su porcentaje de variación de los extractos de hojas, observando que el porcentaje de variación del extracto CH₂Cl₂ a las 9 horas presenta un valor menor en comparación a los otros dos extractos e incluso que la glibenclamida.

Tabla 9. Concentración de Glucosa en ratas Wistar sanas durante la administración de los extractos de hojas de <i>C. reflexifolius</i>					
Concentración de glucosa	Control negativo (mg/dL)	Control positivo (mg/dL)	Extractos de hojas		
			Hexano (mg/dL)	CH ₂ Cl ₂ (mg/dL)	MeOH (mg/dL)
7 h	53	33	39	49	55
% Variación	-25.35	-34.00	-33.90	-24.62	-15.38
9 h	71	42	38	41	53
% Variación	0.0	-16.00	-35.59	-36.92	-18.46
Número de individuos por tratamiento n= 3					

En la tabla 10 se presentan los tiempos 7 y 9 horas junto con el porcentaje de variación de los extractos de corteza, donde se observa que también el extracto de CH₂Cl₂ presento un valor menor en el porcentaje de variación en comparación a la glibenclamida a las 7 y 9 horas del estudio.

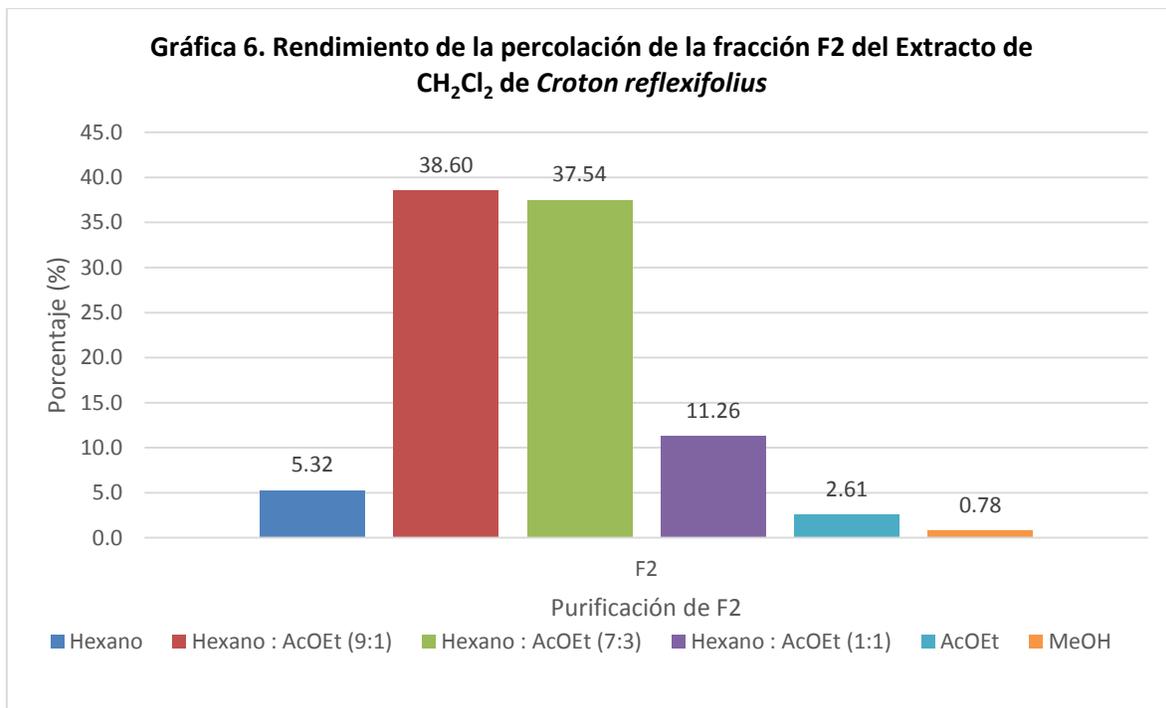
Tabla 10. Concentración de Glucosa en ratas Wistar sanas durante la administración de los extractos de corteza de <i>C. reflexifolius</i>					
Concentración de glucosa	Control negativo (mg/dL)	Control positivo (mg/dL)	Extractos de corteza		
			Hexano (mg/dL)	CH ₂ Cl ₂ (mg/dL)	MeOH (mg/dL)
7 h	43	29	48	30	35
% Variación	-12.24	-40.8	-20.0	-57.1	-46.1
9 h	38	34	43	31	29
% Variación	-22.45	-30.6	-28.33	-55.7	-55.3
Número de individuos por tratamiento n= 3					

En la gráfica 5 se muestra la normalización de las concentraciones de glucosa en sangre para la evaluación de los extractos de corteza de *Croton reflexifolius* donde se observa una diferencia significativa al tiempo de 9 horas entre los extractos de diclorometano y metanol con respecto a la glibenclamida al no superponerse sus errores relativos mostrados en la gráfica, sin embargo no son significativamente diferentes entre sí los extractos de diclorometano y metanol



Rendimiento de las fracciones obtenidas de la columna de percolación del extracto de CH_2Cl_2 de *C. reflexifolius*

En la gráfica 6 se muestran los porcentajes obtenidos de la percolación de la fracción activa del extracto de CH_2Cl_2 de hojas, donde se observa que a polaridades de Hexano: AcOEt (9:1) y (7:3) se obtiene una mayor cantidad, debido a que posee mayor abundancia en compuestos de estas polaridades.



Evaluación del efecto hipoglucémico de las fracciones obtenidas del extracto de CH₂Cl₂ de *C. reflexifolius*, empleando ratas Wistar sanas

En la tabla 11 se presenta el promedio de la concentración de glucosa que presentaron los individuos a las 7, 9 y 10.5 horas de evaluación, observándose que las fracciones F2 y F3 tienen valores de porcentaje de variación menores que la glibenclamida a las 9 y 10.5 horas en comparación con la glibenclamida.

Tabla 11. Concentración de Glucosa en ratas Wistar sanas durante la administración de las fracciones del extracto de CH ₂ Cl ₂ de hojas de <i>C. reflexifolius</i>								
Concentración de glucosa	Control negativo (mg/dL)	Control positivo (mg/dL)	Extracto CH ₂ Cl ₂ (hojas) (mg/dL)					
			F1	F2	F3	F4	F5	F6
7 h	54	42	48.7	28.3	43.0	71	57.0	71.0
% Variación	-8.5	-30.0	+21.7	-34.1	-22.3	-4.7	-3.4	-5.3
9 h	56	61	61.7	42.7	39.7	73.5	57.3	62.0
% Variación	-13.6	-3.3	+67.5	-32.6	-27.1	-8.1	-20.3	-10.7
10.5 h	51	58	67.0	29.0	40.3	68.5	47.0	67.0
% Variación	-13.6	-3.3	+67.5	-32.6	-27.1	-8.1	-20.3	-10.7

Número de individuos por tratamiento n= 3
Prueba ANOVA , F=99.95 % α<0.05%

Evaluación del efecto antidiabético del extracto de CH₂Cl₂ de *C. reflexifolius*, fracción F2 y compuesto purificado empleando ratas Wistar con diabetes inducida.

En la tabla 12 se muestran los niveles de glucosa y porcentajes de variación del extracto de CH₂ Cl₂, la fracción F2 y el compuesto purificado durante la evaluación en el modelo animal de rata Wistar con diabetes inducida, se observa que la fracción F2 posee un mayor efecto hipoglucémico al tener valores de porcentaje de variación menores que la glibenclamida y que el compuesto purificado.

Tabla 12. Concentración de Glucosa en ratas Wistar diabéticas durante la administración del extracto de CH ₂ Cl ₂ de <i>C. reflexifolius</i> , fracción F2 y compuesto purificado.					
Concentración de glucosa	Control negativo (mg/dL)	Control positivo (mg/dL)	Extractos de CH ₂ Cl ₂ (mg/dL)	Fracción F2 (mg/dL)	Compuesto purificado (mg/dL)
5 h	351	370	139	133.7	116.67
% Variación	+10.03	-12.5	-8.5	-35.3	-15.7
7 h	353	351	129.7	58.3	109.33
% Variación	+10.66	-17.0	-14.7	-71.8	-20.96
9 h	324	297	123.33	46.00	106.67
% Variación	+1.57	-29.79	-18.86	-77.14	-22.89

Número de individuos por tratamiento n= 3

10. Discusión de resultados

La cantidad obtenida de extractos es mayor en las maceraciones realizadas con metanol, posteriormente con CH_2Cl_2 y por ultimo con hexano, debido a que la cantidad de compuestos polares presentes tanto en hojas como corteza del *C. reflexifolius* es mayor que la cantidad de compuestos no polares.

Efecto hipoglucémico de los extractos (*screening*)

Después de realizar la evaluación hipoglucémica de los extractos de *C. reflexifolius*, se determinó que tanto los extractos de hojas como de corteza presentan un efecto hipoglucémico al disminuir la concentración de glucosa en sangre de los sujetos de estudio como se muestra en las tablas 9 y 10, el porcentaje de variación se indica con signo negativo debido a que la transformación de los datos de concentraciones de glucosa a porcentajes de variación emplea el valor inicial de glucosa para normalizar la variabilidad de los datos por individuo, de manera que el valor de glucosa a estos tiempos está por debajo del valor basal al inicio del estudio. En el caso del extracto de hexano de hojas a las 7 horas de tratamiento la concentraciones de glucosa es similar a la del fármaco control (glibenclamida) mientras que a las 9 horas tanto el extracto de hexano como el de CH_2Cl_2 presenta valores semejantes e incluso por debajo a los obtenidos por el fármaco control. En cuestión al extracto de MeOH también presenta un efecto hipoglucémico pero de menor potencia que el extracto de hexano y CH_2Cl_2 .

Los extractos de corteza de *C. reflexifolius* de la tabla 10 al igual que sus homólogos de hojas presentan un efecto hipoglucémico al desarrollar una concentración de glucosa baja en los sujetos de estudio, sin embargo en los extractos de corteza son el extracto de CH_2Cl_2 y MeOH los que presentan un mayor efecto hipoglucémico siendo nuevamente el extracto de CH_2Cl_2 el que presenta un menor nivel de glucosa en sangre.

Percolación del extracto de mayor actividad

Para realizar la percolación se eligió el extracto de CH_2Cl_2 de hojas de *C. reflexifolius*, debido a que durante el *screening* además de presentar valores bajos de glucosa en sangre también desarrolló una tendencia lineal en su efecto hipoglucémico, así como su homólogo de corteza sin embargo de este último no se obtuvo un buen rendimiento para realizar la percolación. Posterior a realizar la percolación del extracto de mayor actividad se obtuvieron los rendimientos expresados en la gráfica 6 para cada fracción, siendo la fracción F2 de la que más se obtuvo.

Evaluación del efecto hipoglucémico de las fracciones del extracto de CH_2Cl_2 de *C. reflexifolius*

Debido a la tendencia lineal negativa en la concentración de glucosa del extracto de CH_2Cl_2 se extendió el tiempo de muestreo 1.5 horas más para dar un total de 10.5 horas después de la administración de los extractos como se muestra en la tabla 11.

Después de realizar en análisis estadístico (ANOVA) se determinó que las medias de los tratamientos no son iguales reiterando su diferencia significativa. La fracción 1, mantuvo en la mayoría de sus puntos de muestreo una tendencia positiva en el aumento de la concentración de glucosa, por lo que fue descartado como la fracción hipoglucémica. No así para la fracción 2 y 3 en sus puntos de muestreo presentan una tendencia hipoglucémica al estar por debajo de la concentración inicial de glucosa, la diferencia entre ambas se observa a las 9 y 10.5 horas, donde F2 presenta una reabsorción, mientras que en F3 comienzan a recuperarse los individuos, no obstante ambas fracciones son hipoglucémicas siendo la mejor F2.

En la evaluación de la fracción F4 se puede observar que la disminución de los valores de concentración de glucosa es poco comparado con las fracciones F2 y F3, este comportamiento de baja disminución en los niveles de glucosa también es observado en las lecturas de la fracción F6, por lo que fueron descartadas como hipoglucémicas ya que la disminución en glucosa puede atribuirse al periodo de ayuno al que fueron sometidos los sujeto de estudio y no al extracto como tal.

Por último la fracción F5, durante el estudio demostró un comportamiento errático en el que hasta las 7 horas de tratamiento comenzó a disminuir la concentración de glucosa en sangre sin acercarse a sus homólogos F2 y F3, por lo que también es descartable como fracción hipoglucémica.

Evaluación del efecto Antidiabético

Ratas diabétizadas con Aloxan

Para evaluar el efecto antidiabético se aplicó tratamiento a un grupo de individuos (ratas Wistar) con Clorhidrato de Aloxan, sustancia que se estima provoca daño en las células beta del páncreas, originalmente se planteó usar una concentración de 200 mg/Kg de peso, sin embargo esta concentración no ofreció los resultados esperados de manera que se aumentó a 220 mg/kg de peso, se empleó un grupo de 20 individuos de los cuales aproximadamente el 20% murió durante el monitoreo del tratamiento y un 15% presentó resistencia al efecto del Aloxan. Solo se empelaron aquellos individuos que sobrepasaron los 250 mg/dL de glucosa en sangre.

Así mismo es importante mencionar que en general el tono muscular de todos los individuos de estudio disminuyo considerablemente junto con su temperatura corporal.

Evaluación del efecto antidiabético Extracto de CH₂Cl₂ de *Croton reflexifolius*.

El extracto de CH₂Cl₂ de *Croton reflexifolius* representado en la tabla 5 presento un comportamiento similar al fármaco de referencia (glibencamida) tal y como se esperaba después de haber observado los resultados obtenidos durante la evaluación del efecto hipoglucémico, el extracto de CH₂Cl₂ presento un comportamiento lineal negativo en lo que refiere a la concentración de glucosa en sangre, aproximándose a las concentraciones alcanzadas por el fármaco control a las 5 y 7 horas y a pesar de que en el periodo de 9 horas no mantuvo la misma cercanía con el fármaco control aún se observaba el efecto antidiabético.

Fracción 2 del extracto de CH₂Cl₂ de *Croton reflexifolius*.

En la tabla 12 se observa que el efecto presentado por la fracción F2 fue mayor en comparación con el de su extracto madre y del fármaco control; hasta las primeras tres horas el comportamiento de F2 era similar al del fármaco control, a las 5 horas se separó considerablemente para continuar con una tendencia lineal negativa hasta las 7 horas sobrepasando el efecto del fármaco control hasta el terminó del estudio a las 9 horas, donde se acento el comportamiento de esta fracción, reforzando la idea de que los compuestos contenidos en esta polaridad (Hex:AcOEt 9:1) son los responsables del efecto hipoglucémico y antidiabético del *Croton reflexifolius*.

Evaluación del compuesto purificado

Así mismo se observa en la tabla 12 que el compuesto purificado de la fracción 2 demostró tener un efecto antidiabético, alcanzando un porcentaje de variación en la concentración de glucosa en sangre similar a la del fármaco control a las 5 horas y 7 horas e incluso sobrepasándolo un poco. En el periodo de 9 horas el compuesto purificado aun que mantenía una baja concentración de glucosa en sangre esta ya no era superior a la que ofrecía el fármaco control, es decir el efecto del fármaco control era mayor en periodos más largos.

Con lo anterior queda demostrado que el *Croton reflexifolius* posee un efecto hipoglucémico y antidiabético, siendo este efecto más notable al evaluar del extracto de CH₂Cl₂ la fracción obtenida en una polaridad 9:1 de Hex:AcOEt, donde se puede asumir que están presentes la mayor cantidad de compuestos de esta planta que favorecen este efecto.

La fracción F2 al ser una de las fracciones con mayor actividad hipoglucemiente fue sometida a un análisis espectroscópico resultando una sustancia abundante de punto de fusión de 96- 98 °C, en su espectro de infrarrojo (anexo 1) mostro bandas en 2900 cm⁻¹ típicas de un grupo hidroxilo (-OH) además de una banda a 1600 cm⁻¹ correspondiente a la hibridación del grupo carbonilo (>C=O) en tanto que en su espectro de RMN de ¹H (anexo 2) se muestran siete par de protones aromáticos entre 6 y 7.2 ppm para un sistema aromático, otras señales ubicadas en 4.8 y 4.95 ppm que integran para un protón se asignan aun doble enlace exocíclico, el resto de las señales en este espectro corresponden a los de un diterpeno, estos datos fueron corroborados en un espectro de RMN de ¹³C (anexo 3) donde se observan señales que corresponden a 20 resonancias de carbono de las cuales las ubicadas entre 100 y 185 ppm corresponden a siete átomos de carbono con hibridación sp² las trece señales restantes corresponden al esqueleto de un diterpeno. Por otro lado en el espectro DEPT (anexo 4) se observan señales para dos grupos metilo (-CH₃), además de siete grupos metileno con hibridación sp³ y un grupo metileno con hibridación sp².

Efecto hipoglucemiante de la glibenclamida (fármaco control).

Como se observa en la gráfica 7, el comportamiento de la glibenclamida a bajas y altas concentraciones es el mismo, disminuye la concentración de glucosa en sangre a partir de poco más de una hora que es absorbida hasta alcanzar un tiempo de 5 horas posterior a su administración, donde comienza a recuperarse el individuo, este tiempo corresponde con las 2-4 horas a las que alcanza su máxima concentración plasmática.

El sujeto control así como los demás grupos evaluados a lo largo del estudio, presentan un alza en la concentración de glucosa en el primer tiempo de muestreo debido al estrés al que son sometidas las ratas (corte al final de la cola) para extraer la muestra de sangre al inicio del estudio. Las posteriores variaciones corresponden a las variaciones normales debido al ayuno, que provoca la hidrólisis del glucógeno (glucogenolisis) que intenta compensar los niveles de glucosa en sangre.

Retomando el comportamiento de las curvas, en la gráfica 8 de porcentaje de variación de glucosa en sangre por administración de Glibenclamida, la concentración de 30 y 100 mg/Kg no presentan ninguna diferencia significativa en ninguno de los puntos de muestreo, mientras que en la concentración de 300 mg/Kg el único punto significativamente diferente es a las 1.5 horas posterior a la administración, lo que indica que fue más rápida su absorción, no obstante el comportamiento es el mismo a las tres concentraciones.

11. Conclusiones

Se determinó que de los extractos orgánicos preparados (hexano, diclorometano y de metanol) de las hojas de *Croton reflexifolius*, evaluados en rata Wistar como modelo animal; el extracto de mayor actividad hipoglucémica pertenece al CH₂Cl₂.

Las fracciones obtenidas del extracto de CH₂Cl₂ que presentan mayor actividad hipoglucémica corresponden a F2 (Hexano-AcOEt, 9:1) y F3 (Hexano-AcOEt, 7:3).

El extracto de CH₂Cl₂ y la fracción F2 del mismo extracto presentaron actividad antidiabética, debido a que ambos contienen el compuesto extraído es decir el ácido poliáltico, el cual demostró poseer propiedades antidiabéticas e hipoglucémicas.

12. Perspectivas

En base a los resultados obtenidos se propone continuar en una segunda etapa el trabajo realizado con el *Croton reflexifolius*, donde pueda evaluarse tanto dosis toxica y como dosis letal.

Así como estudiar el efecto de algunos derivados del ácido poliáltico generados por síntesis organica y su efecto hipoglucémico en el modelo de ratas normoglicémicas y con diabetes inducida.

Con el fin de sentar las bases para futuras investigaciones clínicas en humanos enfocadas en desarrollar un tratamiento que mejore la calidad de vida de las personas que presentan diabetes y de ser posible prevenir esta enfermedad.

13. Referencias

1. International Diabetes Federation. [Internet] [accesado 10 Sep 2014] FID. Home. Vivir con diabetes. Estadísticas. Diabetes en números. Disponible en URL: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/es/prologo?language=es>
2. International Diabetes Federation. [Internet] [accesado 10 Sep 2014] FID. Home. Actualización. Estadísticas. Diabetes en números. Ver infografía. Disponible en URL: <http://www.fmdiabetes.org/fmd/pag/estadisticas-de-diabetes-mexico.php>
3. Organización Mundial de la Salud. [Internet] Noviembre 2014 [accesado 20 Nov 2014] WHO. Centro de prensa. Diabetes. Nota descriptiva No. 312. Disponible en URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
4. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, [internet] [accesado 10 Sep 2014] ENSANUT. Informes. ENSANUT 2012. Disponible en URL: <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>
5. Causas de Defunción. Defunciones Generales Totales por Principales Causas de Mortalidad, 2012. [Internet] 14 Septiembre 2013 [accesado 17 Nov 2014] INEGI. Inicio, Estadísticas. Población Hogares y Vivienda. Mortalidad. Principales causas. Total, 2012. Disponible en URL: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>
6. International Diabetes Federation. [Internet] [accesado 20 Nov 2014] FID. Home. Diabetes en números. Estadísticas en el mundo. Atlas de la diabetes de la IDF actualización 2014. Descargar. Disponible en URL: <http://fmdiabetes.org.mx/atlas-de-la-diabetes-de-la-idf-actualizacion-2014>
7. Rodríguez B. R, Reynales S. L. M, Jiménez R. J. A, Juárez M. S. A, Hernández A. M. Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de microcosteo, Rev Panam Salud Publica. 2010; 28(6): 412-420
8. Altagracia MM, Kravzov J. J, Moreno S. M. R, Rubio P. C, Skromne K. D, Rivas C. M. S, Vazquéz M. E. Diabetes mellitus tipo 2: ventas de los hipoglucemiantes orales y costos de los tratamientos farmacológicos en México. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2007; 38(1): 23-33
9. CENAPRECE [Online] 19 Feb 2013 [Accesado 05 Mar 2014] México: CENAPRECE. Epidemiología. Información epidemiológica. Boletín diabetes. Boletín Cierre 2007: Disponible en URL: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/boldiabetes/Boletin-cierre07.pdf>
10. INEGI [Internet] 19 Febrero 2013 [Accesado 05 Mar 2014] México: INEGI. Servicios a usuarios. Sala de prensa. Estadísticas. Día mundial de la diabetes. Disponible en URL: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/aPropositom.asp?s=inegi&c=2852&ep=107>

11. CENAPRECE [Internet] 19 Feb 2013 [Accesado 05 Mar 2014] México: CENAPRECE. Epidemiología. Información epidemiológica. Publicaciones. Información Epidemiológica de Morbilidad Anuario 2009-Versión Ejecutiva: Disponible en URL: http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/PDFS/PUBLICACIONES/2011/ANUARIOS/I_EPI_DE_MORBI_A_2009_V_EJECUTIVA.pdf
12. CENAPRECE [Internet] 19 Feb 2013 [Accesado 05 Mar 2014] México: CENAPRECE. Epidemiología. Información epidemiológica. Publicaciones. Información Epidemiológica de Morbilidad 2010-Versión Ejecutiva: Disponible en URL: http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/PDFS/PUBLICACIONES/2011/ANUARIOS/I_EPI_DE_MORBI_2010_V_EJECUTIVA.pdf
13. CENAPRECE [Online] 19 Feb 2013 [Accesado 05 Mar 2014] México: CENAPRECE. Epidemiología. Información epidemiológica. Publicaciones. Información Epidemiológica de Morbilidad Anuario 2011-Versión Ejecutiva: Disponible en URL: http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/PDFS/PUBLICACIONES/2012/ver_ejecutiva_2011.pdf
14. Tébar M. Escobar J. La Diabetes Mellitus en la práctica clínica. Buenos Aires: MEDICA PANAMERICANA; 2009
15. Koolman J, Röhm K.H, Bioquímica. Texto y Atlas, 3ª ed. España: MEDICA PANAMERICANA, 2004; 158-160.
16. Medline Plus [Online] 27 Feb 2013 [Accesado 06 Mar 2014] US. National Library of Medicine. National Institutes of Health. Diabetes y enfermedad ocular. Disponible en URL: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001212.htm>
17. Pai A, MD, DNB, Maha M, Shafei El MD. Current concepts in intravitreal drug therapy for diabetic retinopathy Saudi Journal of Ophthalmology; 2010; 24: 143–149.
18. Alghdyan A. A. Diabetic retinopathy—An Update, Saudi Journal of Ophthalmology. 2011; 25: 99–111.
19. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J. C, Moro M. A, Portalés A, Velázquez Farmacología Básica y Clínica, 18ª ed. Buenos Aires: MEDICA PANAMERICANA; 2008; 630-639.
20. Marroquín R, Flores M. P, García B. M. M, Mora G. A, Sánchez R. J. F, Aguilar C. A. Efecto antihiper glucémico de un extracto acuoso de *Colubrina elliptica*. Revista Mexicana de las Ciencias Farmacéuticas. 2005; 36: 27-32.
21. Herrera C, García-Barrantes P. M, Blinns F, Vargas M, Poveda L, Badilla S. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Witheringia solanacea* in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats. Journal of Ethnopharmacology. 2011; 133: 907–910.
22. Arokiyaraj S, Balamurugan R, Augustian P. Antihyperglycemic effect of *Hypericum perforatum* ethyl acetate extract on streptozotocin-induced diabetic rats. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011; 386-390.

23. Toma A, Makonnen, E, Debella A, Tesfaye B. Antihyperglycemic Effect on Chronic Administration of Butanol Fraction of Ethanol Extract of *Moringa Stenopetala* Leaves in Alloxan Induced Diabetic Mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012; S1606-S1610.
24. Rahimi P, Kabiri N, Asgary S, Setorki M, Anti-diabetic effects of walnut oil on alloxan induced diabetic rats, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011; 5(24): 2655-2661
25. El-Desoky G. E., Aboul-Soud M. A. M, Al-Numair K. S, Antidiabetic and hypolipidemic effects of Ceylon cinnamon (*Cinnamomum verum*) in alloxan diabetic rats, *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012; 6(9): 1685-1691
26. Gao D, Li Q, Li, Y Liu Z, Fan Y, Liu Z, Zhao H, Li J, Han Z, Antidiabetic and Antioxidant Effects of Oleanolic Acid from *Ligustrum lcidum* Ait in Alloxan-induced Diabetic Rats, *Journal of Phytoter Research*. 2009; 23: 1257-1262
27. Ozougwu, Jevan C. Anti-diabetic effects of *Allium cepa* (onions) aqueous extracts on alloxan-induced diabetic *Rattus novergicus*, *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5(7): 1134-1139
28. Rodríguez B. R, Reynales S. L. M, Jiménez R. J. A, Juárez M. S. A, Hernández A. M. Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de microcosteo, *Rev Panam Salud Publica*. 2010; 28(6): 412-20
29. Altagracia MM, Kravzov J. J, Moreno S. M. R, Rubio P. C, Skromne K. D, Rivas C. M. S, Vazquéz M. E. Diabetes mellitus tipo 2: ventas de los hipoglucemiantes orales y costos de los tratamientos farmacológicos en México. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. 2007; 38(1): 23-33
30. Organización Mundial de la Salud. [Online] Septiembre 2012 [accesado 10 Nov 2014] WHO. Programas y proyectos. Cambio Climático y salud Humana. Diversidad Biológica. Disponible en URL: <http://www.who.int/globalchange/ecosystems/biodiversity/es/>
31. Ammour T, Caracterización de los sectores asociados a la producción, comercialización y transformación de plantas medicinales en Costa Rica, Costa Rica: CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA, 1994; 1
32. Andrade-Cetto A, Heinrich M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 99: 325–348
33. Alarcon-Aguilar F.J, Calzada-Bermejo F, Hernández-Galicia E, Ruiz-Angeles C, Roman-Ramos R. Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonora* root extracts-II, *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 97: 447–452
34. Revilla-Monsalve M. C, Andrade-Cetto A, Palomino-Garibay M. A, Wiedenfeld H, Islas-Andrade S. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007; 111: 636–640
35. Berenguer B, Trabadela C. The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. protect against NSAID-induced gastric lesions, *Journal of Ethnopharmacology*. 2007; 114: 153–160

36. Muzitano, M. F, Tinoco L. W, Guette C, Kaiser C. R, Rossi-Bergmann B, Costa S. S. The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. *Phytochemistry*. 2006; 67: 2071–2077
37. Aguilar-Santamaría, L, Ramírez, G, Nicasio P, Alegría-Reyes C, Herrera- Arellano A. Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth, *Journal of Ethnopharmacology*. 2009; 124: 284–288
38. Biblioteca Digital de la medicina Tradicional Mexicana [Online] [accesado 01 Mar 2014] Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Disponible en URL: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Manzanilla&id=7609>
39. Becerra GA, Estudio biodirigido de la actividad gastroprotectora de *Croton reflexifolius*: papel del óxido nítrico, prostaglandinas y grupos sulfhidrilos en el mecanismo de acción, (Tesis de Licenciatura) México: UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2009, 26-27
40. Salatino A, Salatino M. L, Negri G. Tradicional uses Chemistry and Pharmacology of *Croton* species. *J. Braz. Chem. Soc.* 2007; 18(1): 11-33
41. González- Vázquez R, King B, Aguilar M, Diego N, Lotina-Hennsen B. Pachypodol from *Croton Ciliatoglanduliferus* Ort. As Water-Splitting Enzyme Inhibitors on Thylakoids. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 2006; 54: 1217-1221.
42. Block S, Baccelli C, Tinant B, Meervelt L, Rosenberg R, Habib J, Llabres G, Pauw-Gillet M, y Quetin-Leclercq J. Diterpenes from the leaves of *Croton Zambesicus*. *Phytochemistry*. 2004; 65: 1165-1171
43. Ofusori, D. A, Evaluation of the effect of ethanolic extract of *Croton zambesicus* on the testes of Swiss albino mice. *African Journal of Biotechnology*. 2007 Nov, 6(21): pp. 2434-2438
44. Mohd Ali N. I, Annegowda H. V, Mansor S. M, Ismail S, Ramanathan S, Mordi M. N. Phytochemical screening, antioxidant and analgesic activities of *Croton argyratus* ethanolic extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012;6(21): 3724-3731
45. Sánchez-Mendoza, María Elena, Reyes-Trejo, Benito, de la Rosa, Leticia, Rodríguez-Silverio, Juan, Castillo-Henkel, Carlos and Arrieta, Jesús 'Polyalthic Acid Isolated from *Croton reflexifolius* has Relaxing Effect in Guinea Pig Tracheal Smooth Muscle, *Pharmaceutical Biology*. 2008; 46(10): 800-807
46. Map of *Croton reflexifolius* [Internet] Septiembre 2012 [accesado 10 Sep 2014] Discover Life. Disponible en URL: www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Croton+reflexifolius
47. Tratamiento de la diabetes. Criterios de control. Objetivos terapeuticos. Medidas Generales. [Internet] [accesado 30 Mar 2015] El sevier instituciones. Ficheros. Disponible en URL: <http://www.elsevierinstituciones.com/ficheros/pdf/62/62v10n18a13127552 pdf001.pdf>

Anexo 1

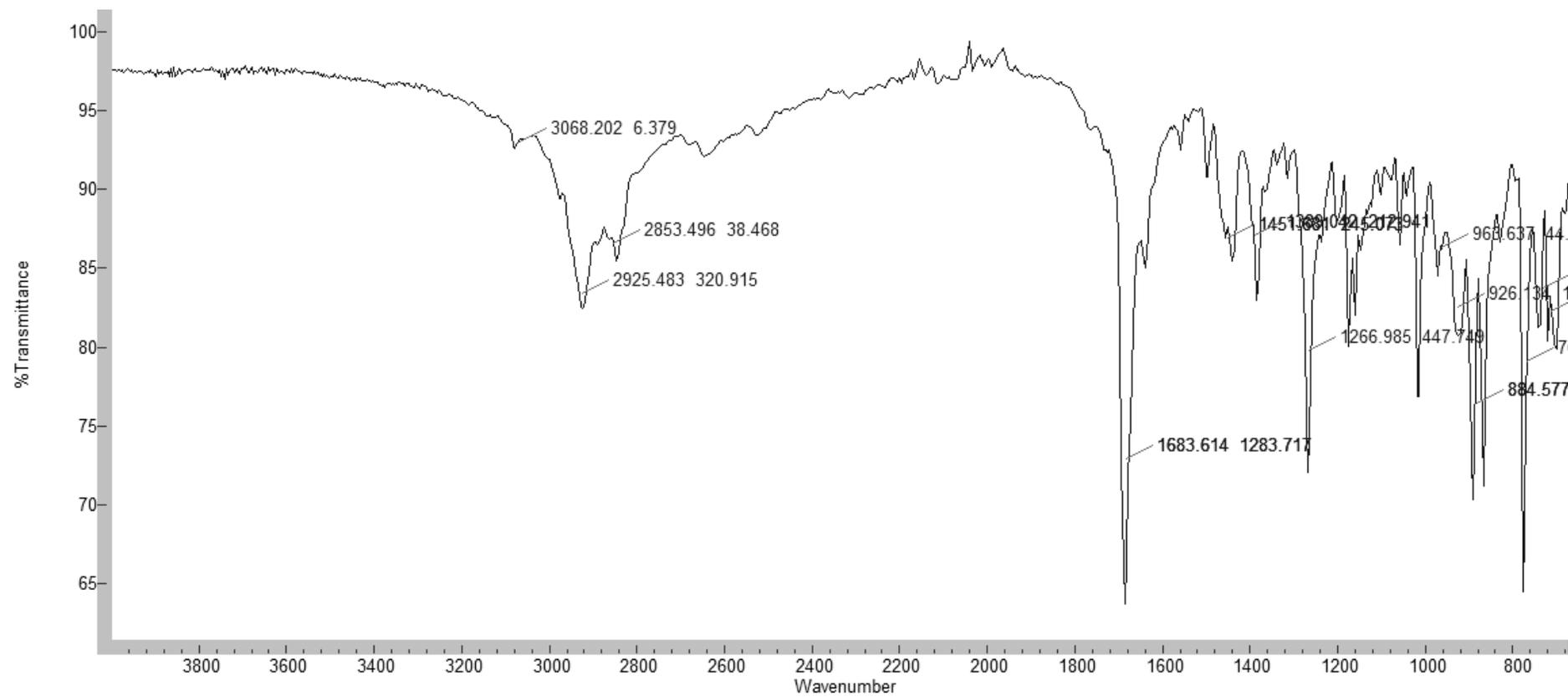


Figura 4. Espectro de Infrarrojo del compuesto purificado

Anexo 2

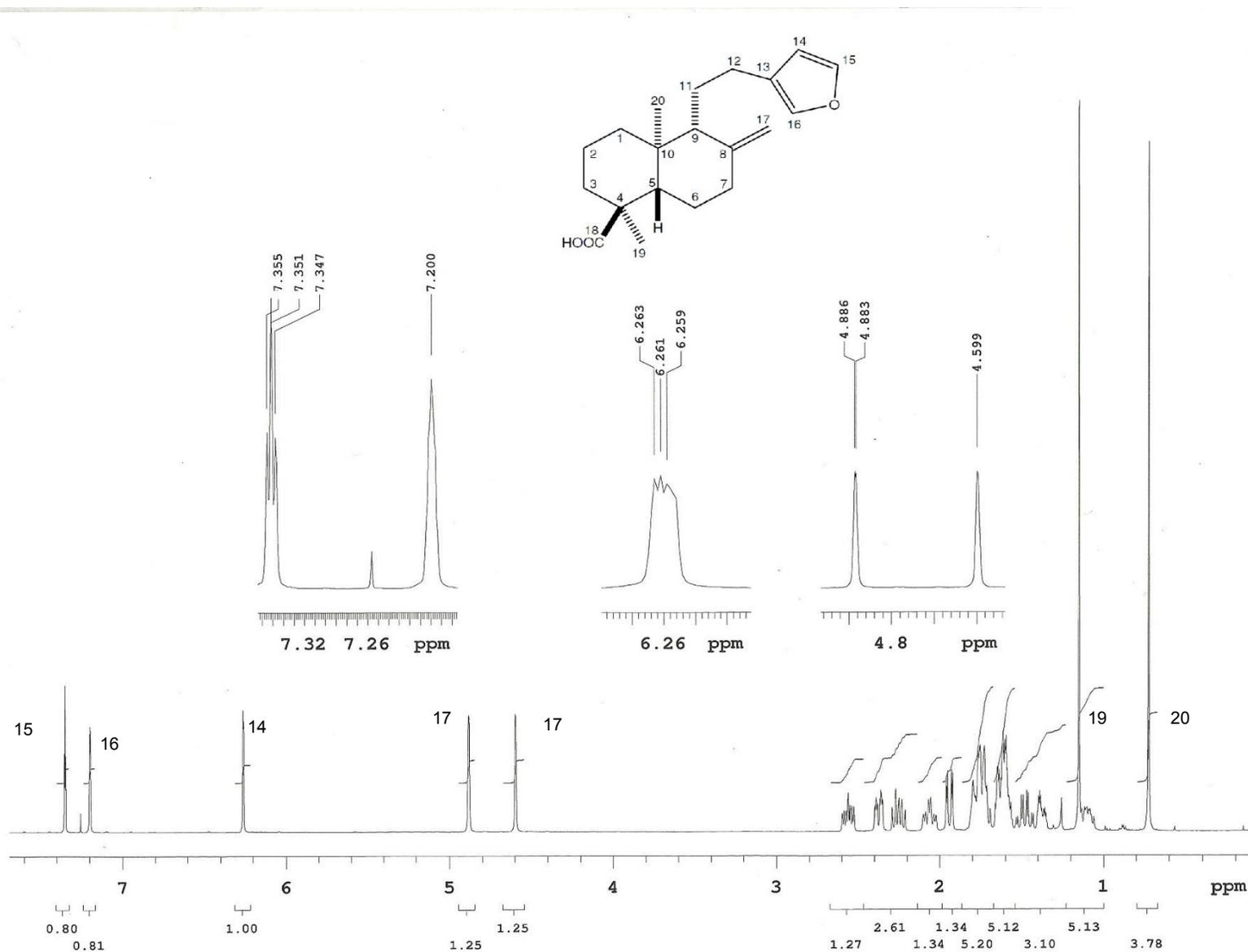


Figura 5. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H del compuesto purificado

Anexo 3

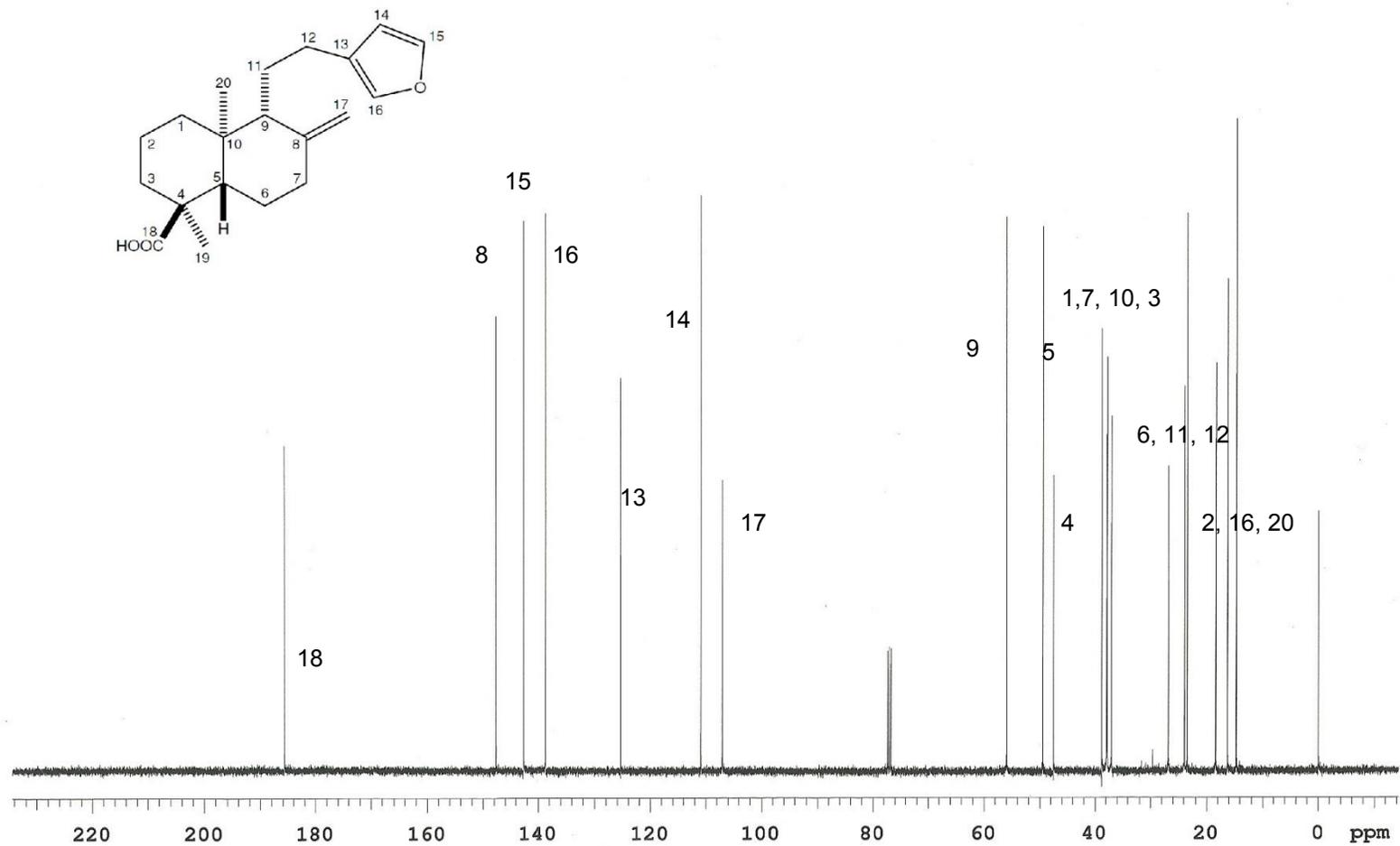


Figura 6. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³C del compuesto purificado

Anexo 4

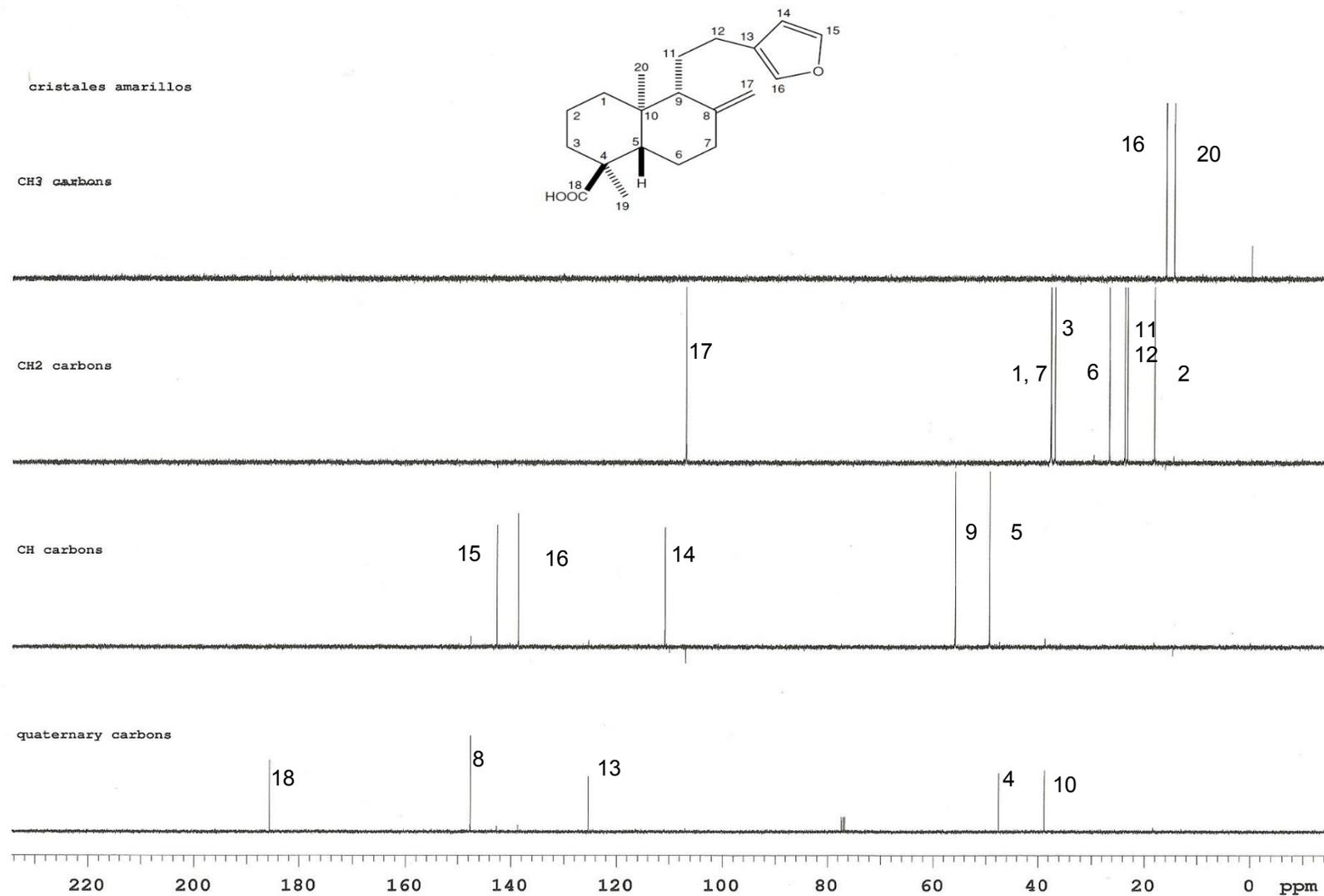


Figura 7. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear DEPT del compuesto purificado

Anexo 5

Gráficas del efecto hipoglucémico de la glibenclamida a tres concentraciones 10, 100 y 300 mg/Kg

Tabla 13. Efecto hipoglucémico de la Glibenclamida. Concentración de glucosa mg/dL					
Muestra	Tiempo	Control negativo	Glibenclamida 10mg/kg	Glibenclamida 100mg/kg	Glibenclamida 300mg/kg
T0	0	61	50.0	49.3	55.3
T1	1.5	72	40.0	37.7	34.0
T2	3	65	27.7	24.7	25.3
T3	5	48	24.3	23.0	28.7
T4	7	55	34.3	32.0	36.7
T5	9	55	31.3	30.7	33.3

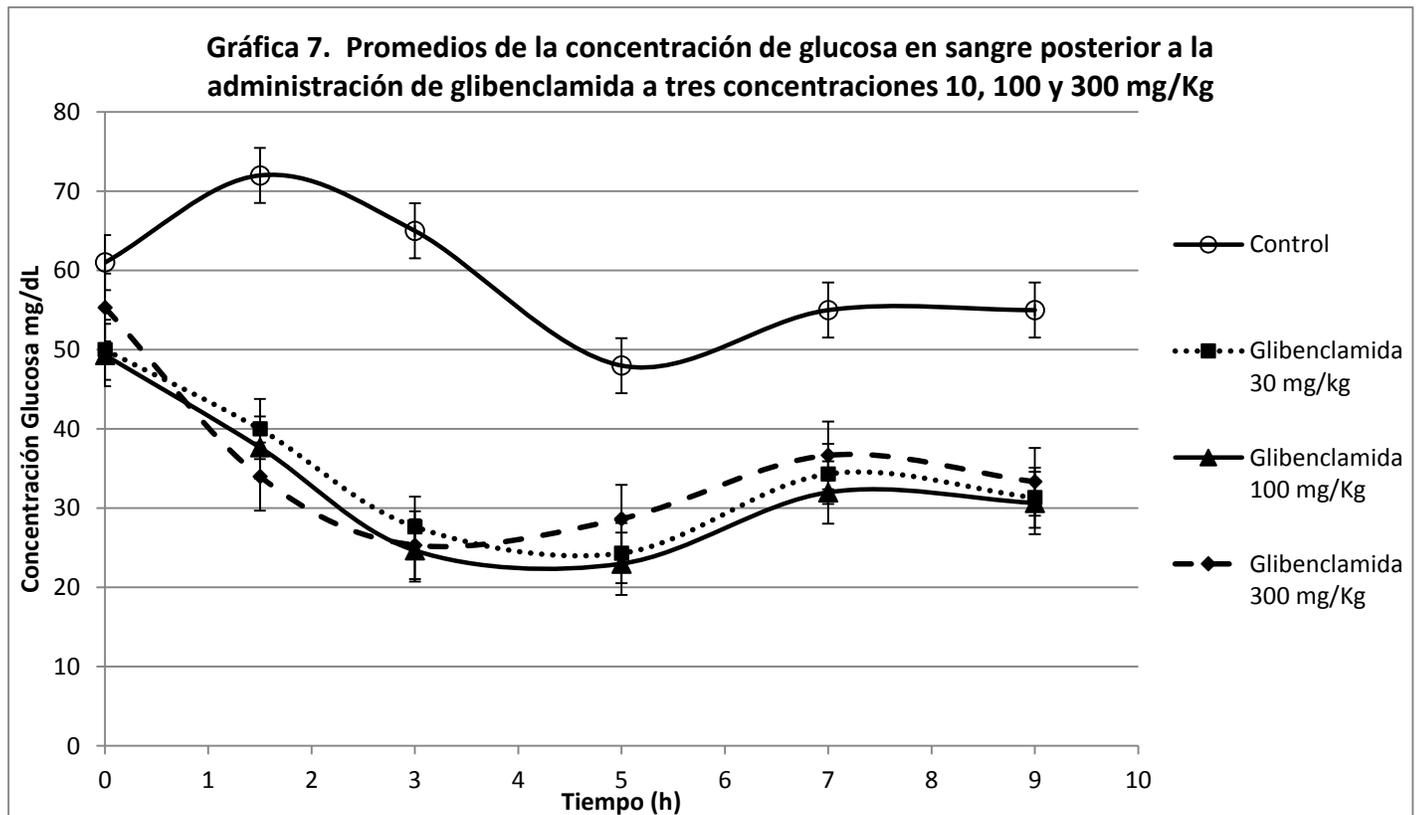


Tabla 14. Promedio de Porcentaje de variación de glucosa posterior a la administración de glibenclamida

Muestra	Tiempo	Control	Glibenclamida 10mg/kg	Glibenclamida 100mg/kg	Glibenclamida 300mg/kg
T0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
T1	1.5	18.03	-19.77	-20.67	-38.75
T2	3	6.56	-44.11	-46.52	-54.03
T3	5	-21.31	-50.81	-50.14	-48.04
T4	7	-9.84	-30.97	-33.32	-33.58
T5	9	-9.84	-37.09	-35.11	-39.95

Gráfica 8. Promedio de % de variación de glucosa en sangre, administración oral de Glibenclamida

