



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estudio del efecto hipoglucemiante agudo de la infusión
de hojas irradiadas de *Cecropia obtusifolia* Bertol. en
ratas STZ-NA**

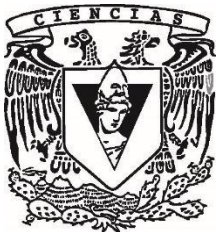
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

Carolina Montserrat Gutiérrez Aguilar



DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Adolfo Andrade Cetto

Ciudad Universitaria, CD. MX., 2020



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.

1. Datos del alumno.

Gutiérrez

Aguilar

Carolina

Montserrat

5564273500

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

309036186

1. Datos tutor

Dr.

Adolfo

Andrade

Cetto

2. Datos sinodal 1

Dra.

Nadia Judith

Jacobo

Herrera

3. Datos sinodal 2

Dr.

René de Jesús

Cárdenas

Vázquez

4. Datos sinodal 3

M. en C.

Christian Alan

Cabello

Hernández

5. Datos sinodal 4

Dra.

Sonia Marlen

Escandón

Rivera

6. Datos de la tesis.

Estudio del efecto hipoglucemiante agudo de la infusión de hojas irradiadas de *Cecropia obtusifolia* Bertol. en ratas STZ-NA

55 p

2020

Para Horte, Fabián y Mire[†]

Long you live and high you fly and smiles you'll give and tears you'll cry and all you
touch and all you see is all your life will ever be. 🎵

Pink Floyd

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi alma mater, por los gratos momentos de aprendizaje académico y personal que me brindó durante mi formación en el CCH-O y la Facultad de ciencias, así como a todos y cada uno de los profesores que me impartieron las asignaturas que cursé a lo largo de mi trayectoria estudiantil.

A la DGAPA PAPIIT (Proyecto IN 226719) por los recursos aportados para la realización de este proyecto de investigación.

A los miembros de mi jurado:

El Dr. Adolfo Andrade Cetto, mi estimado tutor, por darme la oportunidad de ser parte de su equipo de laboratorio, por su gran apoyo, asesoría y confianza para realizar este proyecto.

La Dra. Nadia Judith Jacobo Herrera, por su amable disposición para revisar y corregir mi tesis y las sugerencias dadas para mejorarla.

El Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez, por revisar mi trabajo escrito y aceptar ser parte de mi jurado.

La Dra. Sonia Escandón Rivera, por enseñarme a utilizar los equipos de laboratorio y explicarme su funcionamiento, por realizar las pruebas fitoquímicas necesarias para este trabajo de investigación y por su amabilidad, apoyo y motivación brindada.

El M. en C. Christian Alan Cabello Hernández, por las clases teóricas y experimentales sobre el manejo de los animales de experimentación y por sus cuidados para mantenerlos en condiciones adecuadas.

A mis profesores del laboratorio de etnofarmacología: la M. en C. Daniela Moreno Vargas, la M. en C. Artemisa Espinoza Hernández y el M. en C. Gerardo Mata Torres Valle, por sus excelentes clases. Además, a la Dra. Adriana Romo Pérez por su asesoría al manejar reactivos químicos.

A mis amigas y compañeras de laboratorio, Yokebed Cid y Verónica Machuca, por los conocimientos compartidos, por su apoyo con las dificultades presentadas durante los experimentos y por su amena compañía.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Gracias totales a las dos personas más importantes y que más amo en la vida: mi mamá a la que le debo todo lo que he logrado **María Hortencia Aguilar Román** y mi hermano que siempre me apoya y cuida **Fabián Gutiérrez Aguilar**. A mi querida tía Mireya, Mía, Lana, Miller, Emma, Doro, mis primos Ponce y mi tía Laura.

A mis mejores amigas quienes me apoyaron y creyeron en mí siempre. Susy Reyes, Tannya Mejía, Avi Rodas, Quiqa Juárez, Ana Escalante, Vanessa Guerrero (AVC), Angie Mejía, Naye Sainz, Vale Campos, Ere Jesús, Lau Rojas y Centli Torres <3.

A mis grandes amigos de Universum: Meli, Mena, Lucero, Xary, Gerard, Kevin, Jesús, Alexa, Adri, Blanca, Carla, Anika y Tuna. A mis amigas de CCH de la explanada, así como a Andy, Dulce y Tania Ángel. A mis amigas de danza, a las nenitas de química: Jessy, Jessy A. y Lila, a Fany Cordero y Deyanira Bonilla.

A mis compañeros, amigos y ahora colegas de la Facultad de Ciencias por todos los buenos momentos y aprendizajes que compartimos y que hicieron de la licenciatura una etapa muy feliz de mi vida: **Guapos y Sitio**, Dany Sj, Dany Muro, Mariana López, Rosa Beltrán.

Finalmente, gracias al universo por darme vida y salud para lograr mis propósitos.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	7
1. Diabetes mellitus.....	7
a. Definición	7
b. Prevalencia.....	7
c. Clasificación.....	8
2. Diabetes mellitus tipo 2.....	9
a. Fisiopatología.....	9
b. Complicaciones	11
c. Diagnóstico	11
d. Tratamiento	13
e. Hipoglucemiantes orales (HO).....	13
f. Glibenclamida: Mecanismo de acción.....	15
3. Modelos animales	16
a. Modelo STZ-NA	16
4. Etnofarmacología.....	18
5. <i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol.	20
a. Descripción y clasificación taxonómica	20
b. Extensión y distribución, hábitat y fenología.....	21
c. Antecedentes etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos	22
6. Metabolitos secundarios	25
7. Técnicas cromatográficas para el reconocimiento de metabolitos secundarios	26
a. Cromatografía de capa fina	26
b. Cromatografía líquida de alto rendimiento	27
8. Legislación Mexicana para la comercialización de plantas medicinales	28
9. Irradiación gamma	29
JUSTIFICACIÓN	31
OBJETIVOS	32
Objetivo general:.....	32
Objetivos particulares.....	32
Pruebas farmacobiológicas	32
Pruebas fitoquímicas	32

HIPÓTESIS:

32

METODOLOGÍA	33
1. Colecta de material biológico	33
2. Pruebas farmacobiológicas	33
a. Cálculo de la dosis y elaboración de la infusión	33
b. Animales experimentales	33
c. Inducción modelo hiperglucemia STZ-NA	34
d. Administración de tratamiento a grupos control y experimentales	34
e. Medición de glucosa	35
f. Análisis de datos	35
3. Pruebas fitoquímicas	36
a. Obtención de extracto butanólico	36
b. Reconocimiento de metabolitos secundarios por CCF y HPLC	36
RESULTADOS	38
1. Pruebas farmacobiológicas	38
2. Pruebas fitoquímicas	41
a. Cromatografía en capa fina	41
b. Perfil cromatográfico por HPLC	42
DISCUSIÓN	43
1. Pruebas farmacobiológicas	43
2. Pruebas fitoquímicas	45
3. Irradiación.....	46
a. Desinfección.....	46
b. Optimización de dosis.....	46
c. Otros beneficios.....	46
d. Citotoxicidad	47
4. Aprovechamiento y comercialización de nuevas especies basados en estudios etnofarmacológicos y clínicos.....	48
CONCLUSIONES	49
REFERENCIAS	50

ABREVIATURAS

- **ADA:** siglas en inglés de Asociación Americana de Diabetes
- **ADP:** adenosín difosfato
- **AGL:** ácidos grasos libres
- **Akt:** proteína cinasa B
- **ATP:** adenosín trifosfato
- **CCF:** cromatografía en capa fina
- **COFEPRIS:** Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
- **CONABIO:** Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
- **DM:** diabetes mellitus
- **DM1:** diabetes mellitus tipo 1
- **DM2:** diabetes mellitus tipo 2
- **DMG:** diabetes mellitus gestacional
- **DPP-4:** enzima dipeptidil peptidasa-4
- **EAP:** enfermedad arterial periférica
- **EC:** enfermedad coronaria
- **EHH:** estado hiperosmolar hiperglucémico
- **FID:** Federación Internacional de Diabetes
- **FNIHMATN:** Federación Nacional de la Industria Herbolaria, Medicina Alternativa, Tradicional y Naturista
- **G6P T1:** transportador de la enzima G6Pasa tipo 1
- **G6Pasa:** enzima glucosa-6-fosfatasa
- **G6PT:** transportador de la enzima G6Pasa
- **GIP:** polipéptido inhibidor gástrico
- **GLP1:** péptido similar al glucagón 1
- **GLUT2:** transportador de glucosa tipo 2
- **GLUT4:** transportador de glucosa tipo 4
- **HbA1c:** Hemoglobina glicada
- **HO:** Hipoglucemiantes orales
- **HPLC:** siglas en inglés de cromatografía líquida de alto rendimiento
- **INEGI:** Instituto Nacional de Estadística y Geografía
- **ININ:** Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares
- **IPP:** isopentenil difosfato
- **IR:** siglas en inglés de receptor de insulina
- **IRS:** siglas en inglés de sustratos del receptor de insulina
- **IRS-1:** siglas en inglés de sustrato del receptor de insulina tipo 1
- **IRS-2:** siglas en inglés de sustrato del receptor de insulina tipo 2
- **K_{ATP}:** canales de K⁺ sensibles a ATP
- **kGy:** kilogray
- **MAPK:** proteínas cinasas activadas por mitógenos.
- **MODY:** siglas en inglés de diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes
- **NA:** nicotinamida
- **NAD:** Nicotinamida adenina dinucleótido
- **NOM:** Norma Oficial Mexicana
- **PARP-1 :** enzima poli ADP-ribosa polimerasa 1
- **PI3K:** fosfoinositol 3-cinasa
- **PIB:** Producto Interno Bruto
- **PPAR-γ:** receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma

- **RE:** retículo endoplásmico
- **ROS:** siglas en inglés de especies reactivas de oxígeno
- **SGLT1:** cotransportador de sodio/glucosa tipo 1
- **SGLT2:** cotransportador de sodio/glucosa tipo 2
- **STZ:** estreptozocina
- **SUR1:** receptor de sulfonilurea 1
- **UFC:** Unidades Formadoras de Colonias
- **VLDL:** siglas en inglés de lipoproteínas de muy baja densidad

Abreviaturas de grupos experimentales

- **N:** grupo control normoglucémico
- **H:** grupo control hiperglucémico
- **H+G:** grupo control hiperglucémico + glibenclamida
- **H+CI:** grupo experimental + infusión preparada con hojas de *Cecropia obtusifolia* Bertol. irradiadas
- **H+CSI:** grupo experimental + Infusión preparada con hojas de *Cecropia obtusifolia* Bertol. sin irradiar

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2.

Figura 2: Mecanismo de acción de la glibenclamida.

Figura 3. Características morfológicas de *C. obtusifolia*.

Figura 4: Té de guarumbo de la cooperativa Pura Natura.

Figura 5: Modelo STZ-NA.

Figura 6: CCF de extractos butanólicos de diferentes colectas (5 μ L) y control ácido clorogénico (1 μ L y 10 μ L)

Figura 7. Perfil cromatográfico del extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia* (colecta de 2018 no irradiada)

Figura 8. Perfil cromatográfico del extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia* (colecta de 2018 irradiada)

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de referencia para diagnóstico de diabetes, según la Asociación Americana de diabetes (2018)

Tabla 2. Tratamientos de cada grupo experimental.

Tabla 3. Características de los extractos butanólicos de *C. obtusifolia* y control ácido clorogénico.

Tabla 4. Condiciones cromatográficas bajo las que se realizó el análisis HPLC

Tabla 5. Medias de los niveles de glucosa plasmática (mg/dl) \pm error estándar.

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Medias de los niveles de glucosa plasmática (mg/dl) y error estándar

RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad de etiología múltiple. Se caracteriza por hiperglucemia crónica asociada a alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, como consecuencia de defectos en la secreción o acción de la insulina. Este padecimiento es uno de los mayores problemas de salud pública del siglo XXI, específicamente en México se estima que 12 millones de personas la padecen, siendo una de las principales causas de mortalidad. El diagnóstico y tratamiento permiten reducir las complicaciones, mejorando la calidad de vida de los pacientes, por lo que es de gran importancia la búsqueda de nuevos compuestos activos para tratarla. Esto último se puede lograr a través de estudios etnofarmacológicos.

En México es común el uso de la medicina tradicional para el tratamiento complementario de la diabetes. *Cecropia obtusifolia* Bertol. es una de las plantas más empleadas para este fin. Diversos estudios farmacológicos sobre esta especie, demuestran que sus extractos acuoso y butanólico tienen efecto hipoglucemiante agudo en ratas STZ-NA, lo cual se relaciona con la presencia de los compuestos isoorientina y ácido clorogénico identificados en su perfil químico.

El material vegetal colectado en el campo suele presentar contaminación de microorganismos, por lo que es necesario someterlo a técnicas de desinfección que no afecten su estructura, siendo la más adecuada la irradiación gamma.

En el presente proyecto, se evaluó el efecto hipoglucemiante agudo de la infusión de hojas irradiadas de *C. obtusifolia* en ratas STZ-NA, por otra parte, se realizaron pruebas cromatográficas a extractos butanólicos para determinar si los compuestos activos responsables del efecto hipoglucemiante son modificados por el proceso de irradiación.

Los resultados evidenciaron que el efecto farmacológico hipoglucemiante ejercido por la planta en ratas STZ-NA no se modifica tras el proceso de irradiación, y las pruebas fitoquímicas demostraron que la presencia de los compuestos activos no cambia cuando la planta es sometida a esta técnica ni a lo largo del tiempo.

Se concluye que la irradiación gamma es un método adecuado de desinfección, pues no modifica el efecto terapéutico de *C. obtusifolia*, ni los compuestos activos responsables de éste. Se aportan datos para la futura estandarización de la infusión y para la posterior fase de estudios clínicos que permitirá su comercialización como un fitofármaco hipoglucemiante, bajo las normativas mexicanas de seguridad sanitaria.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se caracteriza por la desregulación del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, como resultado de un deterioro en la secreción de insulina, la resistencia a la insulina o una combinación de ambos (DeFronzo et al., 2015). A nivel mundial 8,8% de los adultos padecen esta enfermedad, siendo una de las 10 principales causas de muerte (Federación Internacional de Diabetes, 2017). En México, las complicaciones de la diabetes fueron la segunda causa de los decesos registrados durante el 2017 (INEGI, 2018). Las complicaciones de esta enfermedad tienen un alto impacto negativo en la calidad de vida de las personas que la padecen, además de ser una gran carga económica para los sistemas de salud (FID, 2017).

Para tratar la DM2, se emplea un enfoque farmacológico con hipoglucemiantes orales (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2014). El desarrollo de estos últimos es continuo, por lo cual es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos activos, siendo las plantas una fuente importante de metabolitos secundarios con propiedades hipoglucemiantes (Subramoniam, 2016).

Hay alrededor de 700 plantas registradas en todo el mundo para tratar o controlar la diabetes mellitus (Subramoniam, 2016), de las cuales, 306 especies se encuentran en nuestro país (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005). Una de las más utilizadas por las comunidades rurales y de la cual existen diversos estudios publicados que comprueban su actividad hipoglucemiante -tanto a nivel farmacológico, como clínico- (Cadena-Zamudio et al., 2019) es la especie *Cecropia obtusifolia* Bertol., conocida con el nombre común de “Guarumbo” (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005). Tradicionalmente sus hojas se preparan en infusión y se bebe como agua de uso (Andrade Cetto y Cárdenas, 2010). En 2001, Andrade-Cetto y Wiedenfeld, demostraron que la infusión ejerce un efecto hipoglucemiante en ratas STZ-NA. Los estudios sobre su composición química, señalan que los compuestos activos responsables de este efecto son la isoorientina y el ácido clorogénico.

Dicho lo anterior *C. obtusifolia* resulta una candidata para desarrollar un fitomedicamento, sin embargo, de acuerdo con la Secretaría de Salud, primeramente, debe garantizarse su inocuidad para evitar daños a la salud humana. Uno de los métodos más efectivos para lograr este cometido es la irradiación gamma, pues se ha comprobado que es una técnica que garantiza la desinfección y no afecta los compuestos activos de la planta (Administración de Alimentos y Medicamentos, 2016).

Por lo tanto, de acuerdo con tales antecedentes, el objetivo de este estudio etnofarmacológico es determinar si el efecto hipoglucemiante de la infusión de las hojas de *C. obtusifolia* y su composición química se modifican por el proceso de irradiación. Todo esto con el fin de comprobar su bioseguridad e inocuidad, para el desarrollo de nuevos fitomedicamentos que permitan mejorar la calidad de vida de los pacientes y a su vez contribuir al crecimiento económico de pequeñas empresas que promueven el uso y conservación de especies mexicanas de interés terapéutico, al proporcionar información farmacológica sobre los efectos que ejerce la planta.

ANTECEDENTES

1. Diabetes mellitus

a. Definición

La diabetes mellitus (DM) se define como un desorden metabólico de etiología múltiple, caracterizado por hiperglucemia crónica asociada a alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, que se produce como consecuencia de defectos en la secreción de insulina, de su acción o ambas (Figuerola et al., 2016).

b. Prevalencia

La diabetes es uno de los problemas de salud pública más grandes del siglo XXI, ya que está entre las 10 principales causas de muerte a nivel global. La Federación Internacional de Diabetes (2017) calcula que alrededor de 425 millones de personas de entre 20 a 79 años (8,8% de la población mundial) la padecen. Si estas tendencias continúan, para el año 2045, 629 millones de personas en el mismo rango de edad tendrán diabetes (FID, 2017).

La falta de control de esta enfermedad incide de manera directa en complicaciones mortales y discapacitantes, que causan daños severos a la salud y a la calidad de vida de los pacientes y de sus familiares. Por otra parte es una carga económica de grandes dimensiones para los sistemas de salud (Fundación Mídete, 2016), pues se calcula que el gasto sanitario total en diabetes es de 727.000 millones de USD, lo que corresponde a uno de cada ocho dólares empleados en sanidad (FID, 2017).

En México cerca del 10 % de la población padece esta enfermedad (Velasco-Guzmán y Brena-Ramos, 2014) y se estima que la cifra podría duplicarse por los casos de personas que aún no han sido diagnosticadas (Fundación Mídete, 2016). Al igual que en el panorama mundial, los gastos de atención sanitaria para tratar la DM2 en nuestro país suponen una gran inversión monetaria, pues en 2013 ascendieron a 362,859.82 millones de pesos, lo que en ese periodo equivalió a 2.25 % del PIB (Barranza-Lloréns et al., 2015).

c. Clasificación

De acuerdo a la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés; 2018), la diabetes se puede clasificar en las siguientes categorías:

- **Diabetes mellitus tipo 1 (DM1).** Abarca del 5 al 10% de los casos de pacientes diabéticos. Es causada por la destrucción autoinmune de las células β del páncreas, lo que generalmente conduce a una deficiencia absoluta de insulina. La tasa de destrucción de las células β es variable, siendo generalmente rápida en individuos jóvenes y lenta en adultos. Un signo frecuente es la cetoacidosis diabética.
- **Diabetes mellitus tipo 2 (DM2).** Representa entre el 90 y el 95% de los casos de personas con diabetes. Esta forma abarca individuos que presentan una deficiencia relativa de insulina y resistencia periférica a esta hormona. La cetoacidosis diabética pocas veces ocurre espontáneamente.
- **Diabetes mellitus gestacional (DMG).** Es un tipo de diabetes diagnosticada en el segundo o tercer trimestre del embarazo, la cual no era claramente evidente antes de la gestación.
- **Tipos específicos de diabetes debido a otras causas.** Esta categoría engloba tipos de diabetes debido a otras causas y de diferente etiología, por ejemplo: síndromes de diabetes monogénica (como diabetes neonatal y diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes [MODY]), enfermedades del páncreas exocrino (como fibrosis quística) y diabetes inducida por fármacos, sustancias químicas o por el trasplante de un órgano.

2. Diabetes mellitus tipo 2

a. Fisiopatología

La diabetes mellitus tipo 2 abarca el mayor porcentaje de todos los casos de diabetes diagnosticados. La prevalencia de esta enfermedad está aumentando en todas las regiones del planeta e incidiendo en edades cada vez más tempranas, debido al estilo de vida actual. Esto genera un alto impacto sobre los sistemas de salud, por lo que se considera que es el tipo de diabetes de mayor importancia (Díaz-Naya y Delgado-Álvarez, 2016).

Esta afección es un trastorno metabólico, cuyo origen involucra factores poligénicos y factores de riesgo como son la obesidad, dislipidemia, hipertensión arterial, historia familiar de diabetes, dieta rica en carbohidratos, factores hormonales y una vida sedentaria (Cervantes-Villagrana y Presno-Bernal, 2013). La hiperglucemia característica de este síndrome se da por disminución de la sensibilidad a la insulina en los órganos blanco (resistencia a la insulina), combinada con una reducción en la capacidad de las células β para secretar esta hormona (Henriksen, 2019).

La resistencia a la insulina en el músculo y tejido adiposo resulta de alteraciones en la cascada de señalización de esta hormona, debido a que la fosforilación de los IRS se da en los aminoácidos serina y no en tirosinas, como normalmente debería ocurrir. Esto se traduce en la disminución de la translocación de los GLUT-4 a la membrana plasmática, los cuales son los encargados del transporte de glucosa dentro de los miocitos y adipocitos (Henriksen, 2019). Además, esta reacción desencadena en el tejido adiposo una lipólisis acelerada y un aumento de los niveles de ácidos grasos libres (AGL) (DeFronzo et al., 2015) que se depositan en los órganos blanco y dificultan la captación de glucosa (lipotoxicidad) (Torrades, 2005).

Por otra parte, la falla de la señalización de la hormona producida por las células β provoca en el hígado una inhibición del almacenamiento de la glucosa excedente del torrente sanguíneo en forma de glucógeno. En condiciones normales, éste último serviría como reserva de energía para su posterior utilización (Masharani y German, 2012).

Las anomalías fisiopatológicas, como las señaladas anteriormente, no solo se dan en los órganos blanco de la insulina, sino también en otros órganos distintos del cuerpo lo que contribuye al deterioro de la homeostasis de la glucosa (**figura 1**) (DeFronzo et al., 2015): en el páncreas el exceso de glucosa puede ocasionar daño permanente en las células. Respecto a las células β reduce aún más su número (glucotoxicidad) y por ende disminuye la cantidad de insulina disponible. Mientras que en las células alfa provoca que los niveles de glucagón aumenten, haciendo que el hígado produzca más glucosa (Tebar y Escobar, 2009).

En el intestino se ve afectada la función de las dos principales hormonas incretinas: el polipéptido inhibidor gástrico (GIP) y el péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), las cuales en condiciones normales estimulan la secreción de insulina durante la ingestión de carbohidratos (De La Higuera et al., 2012). En los riñones, la expresión de SGLT2 aumenta, provocando una mayor reabsorción renal de glucosa y contribuyendo a la hiperglucemia presente (Mediavilla Bravo, 2014). Por otro lado, en el cerebro se da una resistencia a moléculas supresoras del apetito (como la leptina), disminuyen los niveles de dopamina y aumentan los niveles de serotonina, lo que contribuye al aumento de peso y por lo tanto agrava la resistencia a la insulina (DeFronzo et al., 2015).

Finalmente, la glucotoxicidad y lipotoxicidad en conjunto generan especies reactivas de oxígeno (ROS) las cuales contribuyen a la inflamación y provocan cambios epigenéticos que dan como resultado la expresión duradera de genes inflamatorios que alteran la angiogénesis (DeFronzo et al., 2015).

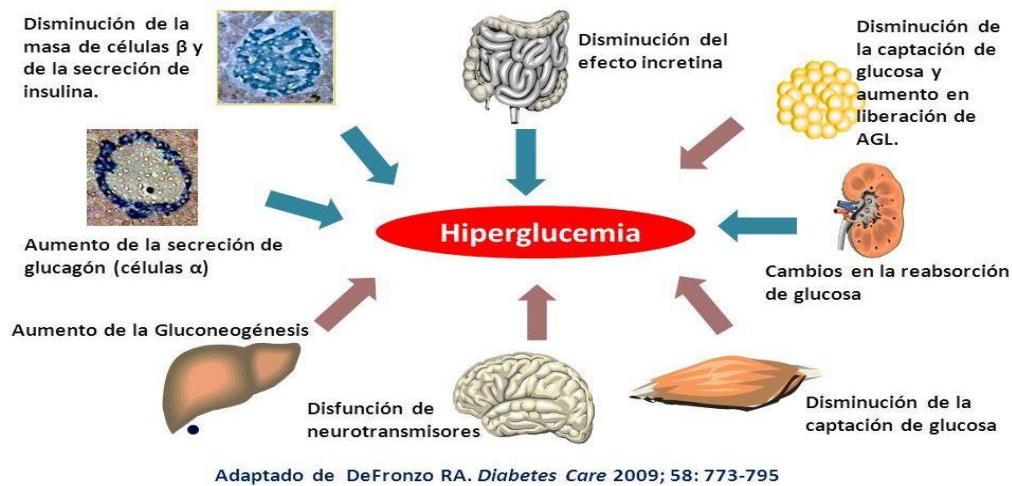


Figura 1. Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2.

Además de la falla en la secreción de insulina y resistencia a esta en los órganos blanco, la hiperglucemia característica de la DM2 se da por anomalías fisiopatológicas en otros órganos como el páncreas, intestino delgado, riñón y cerebro.

Tomada de: DeFronzo (2009) [Figura]

b. Complicaciones

De no controlarse adecuadamente la DM2 puede generar complicaciones dañinas y de gran costo sanitario (FID, 2017). Estas se dan debido a que la hiperglucemia provoca modificaciones estructurales en los componentes proteicos de las membranas y los organelos celulares, generando cambios hemodinámicos que causan engrosamiento de las membranas basales, y por ende, disfunción de las células endoteliales (Schlienger, 2013).

Las complicaciones diabéticas se pueden dividir en agudas y crónicas. Las primeras incluyen estado hiperosmolar hiperglucémico (EHH), coma diabético hiperglucémico, convulsiones o pérdida de conciencia e infecciones. Por otro lado, las complicaciones crónicas son micro y macrovasculares, dependiendo del tamaño del vaso sanguíneo afectado. En el caso de las microvasculares pueden ser nefropatía, neuropatía y retinopatía. Mientras que las macrovasculares son la enfermedad coronaria (EC) que conduce a la angina o el infarto de miocardio, la enfermedad arterial periférica (EAP) que contribuye al accidente cerebrovascular, la encefalopatía diabética y el pie diabético (FID, 2017).

c. Diagnóstico

Aunque no se da en todos los casos, cuando se padece la enfermedad pueden presentarse síntomas característicos como poliuria, polifagia, polidipsia y pérdida de peso (Jinich et al., 2017). Para diagnosticar DM2, deben obtenerse al menos dos exámenes de laboratorio que resulten positivos (Rull y Gómez, 2011) de las pruebas que se mencionan a continuación y cuyos valores de referencia se indican en la **tabla 1**.

- Medición de glucosa plasmática en ayuno (8 horas de ayuno más)
- Prueba de tolerancia a la glucosa oral. Consiste en administrar una carga de 75 gramos de glucosa anhidra disuelta en agua y después de dos horas medir la glucemia en plasma venoso.
- Medición del porcentaje de Hemoglobina glicada (HbA1c) en un laboratorio que utilice un método certificado y estandarizado.
- Prueba de glucosa plasmática aleatoria. Cuando el paciente presenta los síntomas de la diabetes anteriormente mencionados, se hace una medición de la glucemia en cualquier momento del día, sin tener en cuenta el tiempo transcurrido desde la última ingesta de alimentos (Figuerola et al, 2016).

Tabla 1: Valores de referencia para diagnóstico de diabetes, según la Asociación Americana de diabetes (2018) y Punthakee, Goldenberg y Katz (2018)

Parámetros	Normal	Prediabetes	DM2
Glucosa plasmática en ayuno	<100 mg/dl	100–125 mg/dl	≥126 mg/dl
Prueba de tolerancia a glucosa oral tras dos horas	<140 mg/dl	140–199 mg/dl	≥200 mg/dl
Hemoglobina glicada (HbA1c) (%)	≤5.7%	5.7–6.4%	≥6.5%
Glucosa plasmática aleatoria	-	-	≥200 mg/dl

Nota: La prediabetes indica que el nivel de glucosa en sangre es mayor que lo normal, pero no lo suficientemente alto para ser considerado DM2 (Federación Mexicana de Diabetes, 2014).

d. Tratamiento

El objetivo principal del tratamiento para los pacientes con DM2 es alcanzar niveles normales (o casi normales) de glucosa en sangre, para de esa manera retrasar el inicio de las complicaciones asociadas. Las estrategias a seguir para este propósito son cambios en el estilo de vida, tales como llevar una dieta balanceada, evitar el consumo de alcohol y tabaco, así como realizar actividad física aeróbica o anaeróbica para perder peso (con el objetivo de perder grasa corporal). Diversos estudios han demostrado los beneficios a corto y largo plazo de estas medidas, sin embargo, debido a la naturaleza progresiva de la DM2 y la dificultad de mantener los cambios de estilo de vida a largo plazo, son requeridas terapias farmacológicas para el tratamiento efectivo de la enfermedad (Tahrani, Barnett y Bailey, 2016; DeFronzo et al., 2015).

e. Hipoglucemiantes orales (HO)

Los fármacos utilizados en el tratamiento de la DM2, que disminuyen o regulan la glucosa en sangre (Dalama y Mesa, 2016) son llamados hipoglucemiantes orales. El desarrollo de diversos medicamentos es necesario debido a que la diabetes es una enfermedad progresiva y se recomiendan modificaciones en el tratamiento a lo largo del desarrollo de este padecimiento (Lebovitz, 2007).

Algunos de los principales hipoglucemiantes orales se clasifican en:

- **Sulfonilureas.** Son secretagogos de insulina. Actúan inhibiendo los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}), promoviendo la liberación de insulina a largo plazo (Rodríguez-Rivera, Cuautle-Rodríguez y Molina Guarneros, 2017).
- **Glinidas o meglitinidas.** Son fármacos que promueven la secreción de insulina al igual que las sulfonilureas, sin embargo, se diferencian de éstas en que su acción es más rápida y corta, reduciendo el riesgo de hipoglucemias. Actúan principalmente sobre la hiperglucemia posprandial (Llinas-Castro, Alvis-Estrada y Mendoza-Goez, 2017).
- **Biguanidas.** Reducen la producción hepática de glucosa al disminuir la gluconeogénesis, e incrementan la sensibilidad periférica a la insulina aumentando la captación de glucosa en el músculo esquelético (Morales et al., 2008; Powers, 2016).

- **Tiazolidinediona o glitazonas.** Son insulinosensibilizadores del músculo esquelético y miocárdico, hígado y tejido adiposo (Serra-Sansone, 2016). Activan al receptor nuclear PPAR- γ que regula de manera positiva la expresión de genes implicados en la diferenciación de adipocitos, esto a su vez aumenta su almacenamiento y por consiguiente mejora la sensibilidad a la insulina de los órganos blanco. Actúan también sobre la célula β aumentando la secreción de insulina y preservando su función (Sandoval et al., 2009; Serra-Sansone, 2016).
- **Inhibidores de alfa-glucosidasas.** Evitan la degradación de carbohidratos complejos, al inhibir de forma competitiva a las enzimas alfa-glucosidasas (Papadakis, McPhee y Rabow, 2017).
- **Agonistas de GLP-1.** Son análogos sintéticos del GLP-1, los cuales han sido modificados para tener mayor resistencia a la degradación por las enzimas DPP-4 y por consiguiente promueven la liberación de insulina de manera más duradera (Jódar, 2014).
- **Inhibidores de DPP-4.** Aumentan de la concentración de la hormona incretina GLP1 al inhibir a las enzimas DPP-4, lo que se traduce en un aumento de la secreción de insulina (Agudelo-Zapata et al., 2015).
- **Inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa 2 (SLGT2).** Aumentan la excreción urinaria de glucosa, promoviendo la reducción de la hiperglucemia (Powers, 2016). Actúan al inhibir al transportador SLGT2, encargado de realizar cerca de 90% de la reabsorción de ésta (Papadakis et al, 2017).

Las sulfonilureas junto con la metformina (un tipo de glinida) son los tratamientos más ampliamente utilizados y prescritos en diversas regiones del mundo. Las sulfonilureas, específicamente la glibenclamida, aparecen en los listados de medicamentos esenciales de diferentes países (Llinas-Castro et al., 2017), además se utilizan para evaluar modelos animales en estudios agudos, debido a su mecanismo de acción (Amaya-Chávez et al., 2007).

f. Glibenclamida: Mecanismo de acción

La glibenclamida actúa sobre las células β al unirse al receptor de sulfonilureas SUR1 de K_{ATP} provocando su cierre y evitando la salida de K^+ . Esta acción trae como consecuencia la despolarización de la membrana, la entrada de Ca^{2+} a la célula y la activación de la maquinaria secretora de insulina con su consiguiente liberación al medio extracelular (**Figura 2**) (Escorcía, 2009).

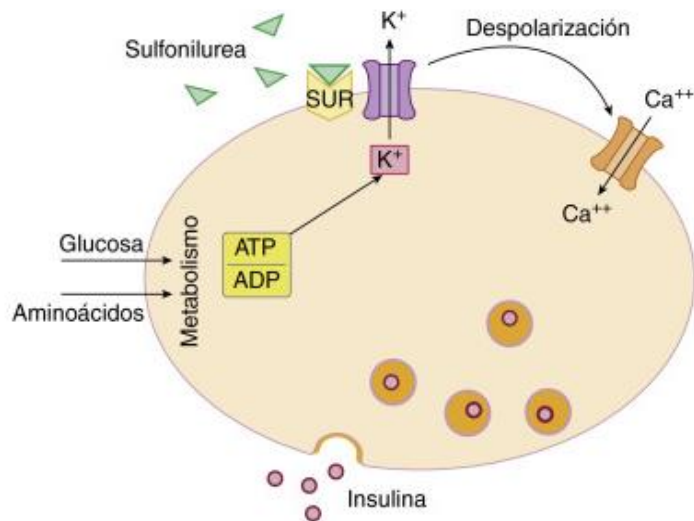


Figura 2: Mecanismo de acción de la glibenclamida.

Cuando la glibenclamida se une al receptor de sulfonilureas de las células β , se da una serie de cambios en la polaridad de la membrana que se traduce en la secreción de insulina al medio extracelular.

K^+ , ion potasio; Ca^{2+} , ion calcio; ADP, difosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina.

Tomada y modificada de: Crandall y Shamoon (2017). *Mecanismo de acción de las Sulfonilureas*. [Figura]

3. Modelos animales

Para el estudio de las diversas enfermedades y sus complicaciones, así como la búsqueda de posibles tratamientos y fármacos que reduzcan los efectos secundarios, se utilizan modelos animales. Estos permiten reproducir características parciales de enfermedades que presentan los humanos (Gullace y Caturini, 2012).

Se clasifican en:

- **Espontáneos o no manipulados.** Son aquellos donde las variables a investigar aparecen en forma natural a partir de la variabilidad genética expresada en una determinada línea animal.
- **Inducidos.** Provocados experimentalmente por administración de sustancias biológicamente activas, manipulación quirúrgica, dietas modificadas o manipulación genética.
- **Negativos.** Resistentes a enfermedades.
- **Huérfanos.** Son aquellos organismos que expresan una determinada variable, hasta ahora no conocida o expresada en la especie humana. Si en algún momento esa característica apareciera en humanos, se adoptarían estos modelos para investigaciones (Gullace y Caturini, 2002).

a. Modelo STZ-NA

Los nuevos compuestos farmacológicos se deben probar para verificar si poseen un valor terapéutico para prevenir o tratar la diabetes. En estos estudios, se han empleado diferentes modelos animales experimentales. Uno de los más utilizados es el desarrollado por Masiello *et al.* en 1998 de hiperglucemia inducida por estreptozotocina-nicotinamida (STZ-NA), el cual consiste en administrar vía intraperitoneal nicotinamida (NA) y 15 minutos después por vía intravenosa estreptozotocina (STZ) (Masiello et al., 1998).

La STZ es un derivado de nitrosourea que entra a la célula β pancreática por el transportador GLUT2. El grupo metilnitrosourea de este fármaco alquila el DNA y lo fragmenta. Para reparar esos daños se activa la enzima poli ADP-ribosa polimerasa 1 (PARP-1). La sobrestimulación de esta enzima, así como la disfunción mitocondrial causada por la STZ disminuye drásticamente la concentración de NAD^+ y por consiguiente de ATP, provocando finalmente la apoptosis de las células. La NA es la forma amida de la vitamina B3 que funciona como un agente protector celular al inhibir a la enzima PARP-1 y actuar como precursor de NAD^+ , haciendo que la destrucción celular sea parcial (**Figura 5**) (Masiello et al., 1998; Szkudelski, 2012).

Los organismos inducidos por el modelo STZ-NA manifiestan hiperglucemia constante y moderada, y no requieren la administración de insulina exógena como los animales que son inducidos exclusivamente con STZ. Aunque presentan un deterioro en la secreción de insulina estimulada por glucosa debido a la reducción del número y funcionalidad de las células β existentes, la respuesta secretora de insulina a los medicamentos de sulfonilurea se conserva. Por lo tanto este modelo resulta adecuado en estudios a corto y largo plazo de diferentes aspectos de la diabetes, así como de las propiedades antidiabéticas de fármacos y algunos compuestos naturales (Szkudelski, 2012).

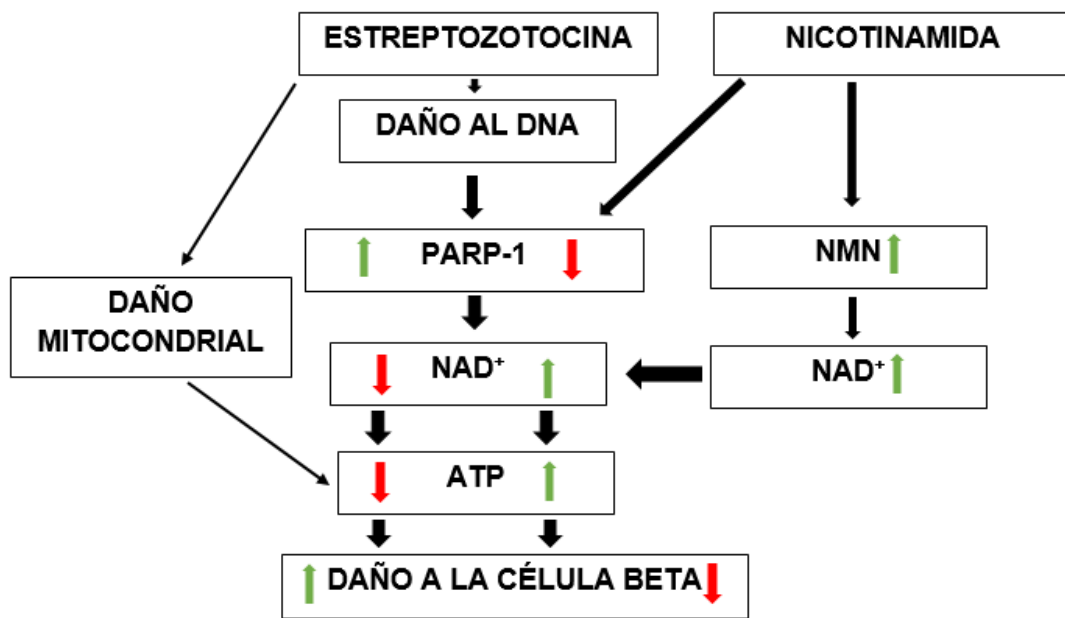


Figura 5: Modelo STZ-NA.

Representación esquemática de la acción citotóxica de la estreptozotocina y la acción protectora de la nicotinamida en las células β .

PARP-1, enzima poli ADP-ribosa polimerasa 1; NMN, mononucleótido de nicotinamida; NAD, Nicotinamida adenina dinucleótido; ATP, Adenosín trifosfato.

Tomada y modificada de: Szkudelski (2012) [Figura]

4. Etnofarmacología

Además de los fármacos antes mencionados, para tratar las enfermedades, las personas también se valen de la medicina tradicional (Subramoniam, 2016). Esta práctica data desde los orígenes del hombre, siendo las plantas uno de los recursos terapéuticos más usados para tratar la salud de las personas (Acosta-Recalde et al., 2018). Este conocimiento se ha transmitido de generación en generación, de manera que algunas costumbres subsisten y son ejercidas de manera cotidiana, tanto en áreas rurales como urbanas (García de Alba et al., 2012).

En las comunidades rurales, en donde el acceso a los medicamentos farmacológicos es restringido debido a múltiples razones, como pueden ser: el traslado a una farmacia, los costos altos, los aspectos culturales, el difícil acceso a centros de salud, entre otros, las plantas medicinales pueden ser la primera fuente terapéutica (Gallegos-Zurita, 2016).

Sin embargo, con el paso del tiempo y el advenimiento de la medicina moderna, se ha enfatizado el uso de medicamentos industrializados por encima del conocimiento tradicional (Heisler et al., 2015), ya que no todas las plantas cuentan con evaluaciones farmacológicas y/o bioensayos, que garanticen su seguridad, pues en casos limitados pueden tener compuestos con efectos adversos (Subramoniam, 2016). Lo anterior, aunado a la falta de interés de las nuevas generaciones por conocer y aprender el uso de las plantas medicinales, pone en grave riesgo la continuidad de estos conocimientos (Rodríguez-García, Dorantes-Euan y Peraza-Echeverría, 2016).

Las políticas de ciencia y salud están tratando de restablecer el uso de las plantas medicinales para el tratamiento de las enfermedades (Heisler et al., 2015), ya que constituyen una fuente de atención primaria al alcance de la mayoría de las personas y con ellas se pueden explorar nuevas alternativas para el desarrollo de medicamentos (Acosta-Recalde et al., 2018).

El papel que juega la etnofarmacología es de gran importancia, pues el conocimiento obtenido durante este tipo de estudios puede ayudar a que las comunidades utilicen las plantas más adecuadas para sanar un determinado padecimiento, conozcan las dosis adecuadas o suspendan su uso cuando éste sea perjudicial. Así mismo, permite obtener información para descubrir nuevas sustancias con actividad biológica que contribuyan a la formulación, producción y comercialización de fitofármacos (Ortigosa, 2006).

México es el cuarto país con más diversidad de plantas vasculares. Se cuenta con un registro total de 23,314 (Villaseñor, 2016), de las cuales alrededor de 4000 angiospermas tienen propiedades medicinales, es decir, una de cada siete especies posee alguna característica curativa (Ocegueda, Moreno y Koleff, 2005). Respecto a la DM2 Andrade-Cetto y Heinrich (2005) estiman que hay cerca de 306 especies usadas por los mexicanos para atender esta afección. *Cecropia obtusifolia* Bertol., es una de las especies más conocidas por su efecto hipoglucemiante y es ampliamente utilizada por los curanderos tradicionales mexicanos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Revilla-Monsalve et al., 2007).

5. *Cecropia obtusifolia* Bertol.

a. Descripción y clasificación taxonómica

Cecropia obtusifolia Bertol. (1840) es un árbol perennifolio, de 20 a 25 m (y hasta 35 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de hasta 50 cm. La copa tiene forma de sombrilla, estratificada, con todas las hojas expuestas a la luz directa del sol. Sus hojas son en espiral, simples, peltadas y profundamente palmado-divididas, verde oscuras y brillantes en el haz, y grisáceas en el envés con una nervación rojiza y prominente. Por otro lado, las hojas son lanceoladas durante las primeras etapas del desarrollo de las plántulas, y cuando éstas alcanzan aproximadamente los 80 cm de altura, se empiezan a lobular (**figura 3A**)

El tronco es monopódico, cilíndrico, recto; la corteza externa es lisa, gris clara, mientras que la corteza interna es de color crema verdoso o crema claro (**figura 3B**). Las flores crecen en inflorescencias en espigas, la infrutescencia es de color verde amarillenta a pardo oscura. Las semillas son muy pequeñas, de 1 a 2.8 mm de largo y 0.8 a 1.3 mm de ancho. Tiene sexualidad dioica (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2017).

Se conoce con los nombres comunes de “Guarumbo”, “Chancarro”, “Hormiguillo”, “Chiflon” y “Koochl” (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

Información taxonómica de *C. obtusifolia*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Urticaceae

Género: *Cecropia*

Sinonimias: *Cecropia burriada* Cuatrec. ; *Cecropia mexicana* Hemsl. ; *Cecropia mexicana* var. *macrostachya* Donn. Sm. ; *Cecropia obtusifolia* subsp. *burriada* (Cuatrec.) C.C. Berg & P. Franco ; *Cecropia panamensis* Hemsl. (CONABIO, 2017).



Figura 3. Características morfológicas de *C. obtusifolia*.

A) Fotografía de un árbol donde se muestra el tronco monopódico y su corteza, así como la forma de la copa.

[Fotografía de Adolfo Andrade Cetto] (México, 2018).

B) Fotografía de una hoja donde se puede ver el color del haz y la forma palmado-dividida.

[Fotografía de Adolfo Andrade Cetto] (México, 2018)

b. Extensión y distribución, hábitat y fenología

Extensión y distribución: Originaria de América Central. Se extiende desde el sur de México, hasta el norte de Sudamérica. Se distribuye en la vertiente del Golfo; desde Tamaulipas y San Luis Potosí, hasta Quintana Roo y Yucatán; y en la vertiente del Pacífico, desde el sur de Sinaloa hasta Chiapas.

Hábitat: Esta especie prospera cerca de arroyos, en claros y bordes. Se desarrolla tanto en suelos con buen drenaje, como en aquellos con impedimentos de drenaje; tanto de origen volcánico, como sedimentario o metamórfico.

Fenología:

- Follaje: Perennifolio. La tasa de recambio foliar es notablemente baja.
- Floración: Florece durante casi todo el año.
- Fructificación: Los frutos maduran todo el año.
- Polinización: Anemófila (viento) (CONABIO, 2017).

c. Antecedentes etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos

i. Antecedentes etnobotánicos

Se usa como antitusivo y antipirético, para tratar afecciones cardíacas, enfermedades hepáticas y pulmonares, asma, resfriado común, hidropesía, heridas, fracturas de huesos, mal de orín, riñones, mal de sanvito, reúmas, piquetes de alacrán y hormigas, excesiva salivación, así como para la eliminación de verrugas (CONABIO, 2017).

C. obtusifolia tiene un uso muy extendido en la medicina tradicional de México para el tratamiento de la DM2 (Alonso-Castro et al., 2008). Tradicionalmente, las hojas secas (15 g) se hierven en agua (500ml) y la infusión resultante se enfría y se cuela (filtra), después se bebe como agua de uso (consumida a lo largo del día o cuando se tiene sed) (Andrade Cetto y Cardenas, 2010). Es usada en los estados de Hidalgo, Guerrero, Veracruz, Yucatán, Campeche, Tabasco, Edo. de México, Oaxaca y Chiapas (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

• Infusión

El té de Guarumbo (nombre común de la especie) se comercializa en México por la cooperativa Guerrerense del municipio de Ometepec, llamada “Pura Natura”, la cual busca pagar a los proveedores de las hojas secas un precio justo.

Se toma un sobre de té diariamente, en un litro de agua, como “agua de uso” (**figura 4**), por al menos cinco semanas, en combinación con una dieta saludable y como complemento a la medicación (Pura Natura, 2013).



Figura 4: Té de guarumbo de la cooperativa Pura Natura. Presentación comercial con 10 sobres de té para el control de la DM2 [Figura]

ii. Antecedentes fitoquímicos

Los estudios sobre su composición química señalan la presencia de esteroides, taninos y monosacáridos, saponinas y compuestos fenólicos, así como la ausencia de alcaloides, flavonoides y glucósidos cardiotónicos (Cadena-Zamudio et al, 2019). Estudios más recientes muestran la presencia de 18 nuevos compuestos identificados de las hojas de esta especie (Cadena-Zamudio et al., 2019). Los compuestos mayoritarios aislados de sus hojas son el ácido clorogénico y la isoorientina los cuales ejercen un efecto hipoglucemiante (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001; Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

iii. Antecedentes farmacológicos

Estudios farmacológicos han demostrado la actividad hipoglucemiante de los órganos de *C. obtusifolia*. En ratas STZ-NA ha sido comprobado que el extracto acuoso y butanólico de las hojas reduce los niveles de glucosa plasmática (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001). Asimismo, lo hace el jugo fresco y el jugo liofilizado de la corteza, siendo este último el que ejerce mejores resultados, ya que la liofilización permite disminuir los efectos de la oxidación (Alvarado-Ríos, 2016).

Se ha tratado de dilucidar cuál es el probable mecanismo de acción que confiere a la planta la capacidad de disminuir la glucemia, por lo que a lo largo del tiempo se han realizado diversos estudios.

Andrade-Cetto, Becerra y Cárdenas (2008) realizaron un estudio en el que mostraron que el extracto butanólico de hojas de *C. obtusifolia* a una dosis de 96 mg/kg, disminuye la hiperglucemia postprandial en ratas STZ, asociando este efecto con la inhibición de las enzimas α -glucosidasas. En 2007, Soto-Constantino reportó que el extracto butanólico de la planta a una dosis de 150 mg/kg reducía los niveles de glucosa en sangre de ratas diabéticas, no obstante, este autor confirmó el efecto a un incremento en la secreción de insulina.

Posteriormente en 2013, Samario-Román obtuvo los mismos resultados administrando dosis de 15 mg/kg y 150 mg/kg, pero por el contrario reportó una disminución de las concentraciones plasmáticas de insulina, de modo que concluyó que este efecto no está dado por un aumento en la secreción de esta hormona (Samario-Román, 2013). Finalmente, en 2010, Andrade-Cetto y Cárdenas explicaron que el ácido clorogénico, uno de los principales constituyentes que se han aislado de *C. obtusifolia*, actúa como inhibidor de la enzima G6Pasa reduciendo así la producción hepática de glucosa y por lo tanto ejerciendo un efecto hipoglucemiante (Andrade-Cetto y Cárdenas, 2010) que a su vez mejora los mecanismos de captación periférica de glucosa (Samario-Román, 2013).

Por lo que se refiere a la isoorientina, se ha comprobado que puede reducir los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos desde el quinto día de tratamiento en ratas hiperglucémicas inducidas por STZ (Cadena-Zamudio, 2019). Este compuesto tiene un efecto antioxidante que reduce la acción dañina de los radicales libres y por ende ayuda a reducir las complicaciones de la enfermedad (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

En estudios a nivel clínico, Herrera-Arellano et al. (2004) y Revilla-Monsalve et al. (2007) comprobaron que *C. obtusifolia*, reduce los valores de glucosa en sangre, Herrera Arellano et al. (2004) también demuestran que reduce los niveles de triglicéridos y colesterol.

Para terminar, en un estudio realizado por Martínez-Toledo et al. (2008), mediante dos tipos distintos de ensayos *in vivo*, se encontró que en la infusión de hojas de *C. obtusifolia* no ejerce efectos citotóxicos ni genotóxicos.

6. Metabolitos secundarios

El metabolismo de las plantas puede dividirse principalmente en dos tipos: el metabolismo primario y el secundario. El metabolismo primario corresponde a las funciones fundamentales para la sobrevivencia tales como la fotosíntesis, mientras que el metabolismo secundario abarca rutas bioquímicas por las que sintetizan sustancias (Almaraz-Abarca et al., 2006) que cumplen funciones como protección de los depredadores, virus, hongos y bacterias, pero que no son esenciales para la vida (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Los metabolitos secundarios han sido aprovechados por el ser humano para ser usados como principios activos de medicamentos y de otros productos químicos como nutracéuticos y fitofármacos (Rojas et al., 2015).

Existen diversas clasificaciones de estos compuestos orgánicos, las cuales toman en cuenta cierta característica para agruparlos, por ejemplo: su estructura química, composición, solubilidad o la vía por la cual se sintetizan (Tiwari, 2015). Según sus rutas biosintéticas, existen tres principales categorías: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados (Chinou, 2008).

- **Productos nitrogenados.** Estos compuestos son principalmente alcaloides y glucósidos cianogénicos. Son moléculas orgánicas de carácter básico que presentan uno o más átomos de nitrógeno formando parte de un heterociclo; se sintetizan de aminoácidos o de sus derivados inmediatos (Sierra et al., 2018).

- **Fenoles.** Son compuestos hechos de azúcares simples, que contienen anillos de benceno, hidrógeno y oxígeno (Chinou, 2008). Incluyen los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos (Pérez-Alonso y Jiménez, 2011). Los fenoles que son esenciales para el crecimiento y la reproducción de las plantas también tienen acción como antibióticos, pesticidas naturales, agentes protectores contra rayos UV y aislantes en las paredes celulares (Sierra et al., 2018).

- **Terpenos o terpenoides.** Constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (Sierra et al., 2018). El ácido mevalónico, un derivado del acetyl-CoA, se considera un precursor de todos ellos (Chinou, 2008). Se forman por la polimerización de unidades de isoprenos (Pérez-Alonso y Jiménez, 2011). Constituyen uno de los tipos de compuestos volátiles mayoritarios en flores y en frutos, y son extensamente usados por sus cualidades aromáticas (Sierra et al., 2018).

7. Técnicas cromatográficas para el reconocimiento de metabolitos secundarios

La cromatografía es una técnica para separar mezclas, basada en la distribución de los componentes de la muestra entre dos fases: la fase estacionaria y la fase móvil (Lenehan, 2013). La fase móvil se desplaza a lo largo del sistema y puede ser un líquido, sólido o fluido supercrítico; mientras que la fase estacionaria permanece fija dentro del sistema y consiste usualmente en una serie de partículas sólidas o un líquido viscoso fijado a una superficie determinada (Lenehan, 2013).

La clave de la separación en cromatografía es que la velocidad con la que se mueve cada sustancia depende de su afinidad relativa por ambas fases (equilibrio de distribución). En general, los componentes más afines a la fase estacionaria avanzan lentamente (más retenidos), mientras que los más afines a la fase móvil (menos retenidos) se mueven con mayor rapidez (Facultad de Química, UNAM, 2007).

Se acostumbra clasificar los métodos cromatográficos según:

- a) La configuración física de la fase estacionaria, la cual puede ser plana o basada en columnas, por ejemplo, cromatografía de capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida de alto rendimiento, etc.
- b) El estado físico de la fase móvil (gas, líquido o fluido supercrítico) empleado como eluyente (Lenehan, 2013).

Como se ha mencionado existen diferentes tipos de cromatografía desarrolladas para lograr los mejores resultados en los análisis de laboratorio. En este experimento los tipos más convenientes para lograr los objetivos de la investigación fueron la cromatografía de capa fina y la cromatografía líquida de alto rendimiento.

a. Cromatografía de capa fina

La cromatografía de capa fina (CCF) es una variante de la cromatografía líquida. La fase líquida es un eluyente que consiste típicamente en mezclas de varios solventes en diferentes proporciones, los cuales proporcionan diferentes grados de polaridad (Lewis y Lenehan, 2013). La fase estacionaria es sólida y consiste en una capa de partículas de unos milímetros de espesor (Alzate, 2014), como sílice, sílice derivatizada o celulosa (Meyer, 2013) y está fijada sobre un soporte sólido generalmente de aluminio, plástico o vidrio (Alzate, 2014).

Para interpretar la placa cromatográfica obtenida se utiliza un revelador que reacciona con grupos funcionales específicos y se observa bajo luz UV, donde se compara la posición y colores de las bandas contra un control (Alzate, 2014)

Este método presenta varias ventajas tales como la sencillez del proceso, reproductibilidad (Facultad de Química, UNAM, 2007) y ejecución de varias muestras en una sola placa para que estén en condiciones idénticas y sea más sencilla la comparación (Lewis y Lenehan, 2013).

b. Cromatografía líquida de alto rendimiento

La Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC por sus siglas en inglés) es una extensión de la cromatografía en columna; la fase móvil es un líquido y la fase estacionaria es una columna que posee un tamaño de partícula muy pequeño que ha sido herméticamente empaquetada en una columna de acero inoxidable producida comercialmente (Lewis, 2013; Facultad de Química, UNAM, 2007).

La muestra es inyectada en el seno de la fase móvil, impulsada a una elevada presión a través de la columna que contiene la fase estacionaria. Una vez separados los diferentes analitos, estos pueden ser identificados o cuantificados empleando un detector (Rigo-Bonnin et al., 2015). Es recomendable analizar las muestras al mismo tiempo para que estén bajo los mismos parámetros, pues cambios en el pH y en el contenido de solvente pueden dar como resultado separaciones marcadamente diferentes (Lewis, 2013).

Esta técnica analítica de separación es una de las más utilizadas debido a que presenta una alta sensibilidad, se adapta fácilmente a las determinaciones cuantitativas exactas y tiene la capacidad de separar especies no volátiles o termolábiles (Facultad de Química, UNAM, 2007). Es ampliamente aplicada en centros de investigación, en la industria farmacéutica y en laboratorios clínicos, para el desarrollo de nuevos fármacos (Rigo-Bonnin et al., 2018).

8. Legislación Mexicana para la comercialización de plantas medicinales

Lo que se espera después de realizar estudios químicos, farmacológicos y clínicos de plantas con usos medicinales, es la formulación y comercialización de un fitofármaco (Ortigosa, 2006). Para ello se deben seguir protocolos y normativas establecidas en México por la Secretaría de Salud, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS).

La Norma Oficial Mexicana *NOM-072-SSA1-2012: Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios*, establece que estos pueden ser comercializados en forma farmacéutica cuando la eficacia terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura (nacional o internacional), se cuenta con el registro sanitario otorgado por la Secretaría de Salud y el fitomedicamento tiene el debido etiquetado.

Respecto a las normas de higiene de los establecimientos que fabrican remedios herbolarios, las cuestiones de fabricación e higiene se establecen en la *NOM-248-SSA1-2011: Buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de remedios herbolarios* y la *NOM-251-SSA1-2009: Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*.

Finalmente, la Secretaría de Salud en los artículos 234 y 245 de la *Ley General de Salud (2007)* y en el *Acuerdo por el que se determinan las plantas prohibidas o permitidas para tés, infusiones y aceites vegetales comestibles (1999)* establece una lista de plantas prohibidas en la elaboración de té , infusiones o de suplementos alimenticios, así como una lista de plantas que se deben evitar durante el embarazo, pues podrían causar daños a la salud. En ninguno de estos listados de especies figura *C. obtusifolia*.

9. Irradiación gamma

Las plantas medicinales que son colectadas en el campo pueden presentar contaminación por microorganismos, pesticidas o metales pesados, convirtiéndose en un vector de enfermedades. Para evitar el daño a la salud humana, evadir pérdidas en producción y proveer insumos terapéuticos microbiológicamente seguros, se ha recurrido a diversos métodos de esterilización (Acosta de la Luz, 2002), tales como el tratamiento químico o térmico.

Sin embargo, existen algunas desventajas de estas técnicas, por ejemplo, algunos de los productos químicos usados para la desinfección pueden ser tóxicos o dañar la capa de ozono (Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, 2010). Respecto al método físico de secado por calor, éste puede modificar la composición fitoquímica (Acosta de la Luz, 2002) o acelerar el deterioro de los compuestos activos de la planta medicinal (Iturbide y López, 2004), lo cual implica una disminución de su calidad.

La irradiación de alimentos es un método físico que consiste en exponer al producto -ya sea envasado o a granel- a rayos gamma a una dosis controlada, durante un tiempo determinado, de acuerdo a las características físicas de cada producto para desbacterizarlo o esterilizarlo (ININ, 2010).

La radiación gamma se genera cuando se tienen átomos radiactivos con núcleos inestables, los cuales se reorganizan espontáneamente para formar un núcleo estable con emisión de radiación. Los núcleos radiactivos existen en la naturaleza y también se pueden crear artificialmente, como se hace con el cobalto-60, el cual se genera por activación con neutrones térmicos del cobalto en un reactor nuclear de investigación (Iturbide y López, 2004).

Los tratamientos utilizados se clasifican de acuerdo con la dosis media absorbida:

- La dosis baja (hasta 1 kGy) se usa para retardar procesos biológicos de frutas frescas y hortalizas, así como para eliminar insectos y parásitos en diversos alimentos.
- La dosis media (hasta 10 kGy) se emplea para reducir microorganismos patógenos y alterantes, así como para mejorar propiedades tecnológicas de los alimentos.
- La dosis alta (superior a 10 kGy) sirve para la esterilización comercial de ciertos alimentos en casos especiales, como en dietas hospitalarias para personas con inmunodeficiencia y alimentos para astronautas (Gálvez y Buitimea, 2008).

Los compuestos químicos que constituyen los principios activos de las plantas medicinales pueden ser susceptibles a hidrolizarse u oxidarse (Acosta de la Luz, 2002), sin embargo, la técnica de irradiación es un proceso en frío que no ejerce influencia sobre ellos (ININ, 2010), lo cual ha sido comprobado hasta dosis de 10 kGy (Sincholle et al., 1987; Acosta de la Luz, 2002).

Además, es una técnica segura para la salud humana, respaldada por diversas publicaciones de organismos como la Administración de Alimentos y Medicamentos, la Organización Mundial de Salud, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, y el Departamento de Agricultura de EU (Administración de Alimentos y Medicamentos, 2016),

Se estima que hoy en día existen más de 200 irradiadores gamma en operación en 55 países, entre los cuales se incluye México (Rangel, 2010). Su uso está en crecimiento, pues se ha demostrado ampliamente la eficiencia de la irradiación como un método seguro y confiable que garantiza la inocuidad y calidad de los alimentos (Iturbide y López, 2004). En el caso específico de las plantas medicinales, es una herramienta alternativa útil para producir fitofármacos con calidad higiénico-sanitaria similar a las exigidas a los medicamentos convencionales o alopáticos (Acosta de la Luz, 2002).

JUSTIFICACIÓN

El número de personas que padecen DM2 en el mundo y en México está aumentando considerablemente. Esta enfermedad causa complicaciones que afectan en gran medida la calidad de vida de los pacientes y es una carga económica para los sistemas de salud. Es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos activos para proporcionar tratamientos adecuados que controlen la hiperglucemia. *Cecropia obtusifolia* Bertol. es una de las especies más utilizadas por las comunidades rurales, cuyo efecto hipoglucemiante ha sido comprobado en varios estudios, por lo que resulta ideal para la producción de un fitofármaco.

De acuerdo a las normativas mexicanas, para que un fitomedicamento pueda ser comercializado debe asegurarse su eficacia, seguridad e inocuidad, siendo la irradiación gamma una de las técnicas más recomendadas para lograr esta última característica.

La importancia de realizar este estudio etnofarmacológico y que lo hace diferente a otros trabajos, radica en comprobar si la irradiación gamma es un proceso adecuado, que no interfiera con el efecto terapéutico hipoglucemiante, ni con las características químicas de la infusión de hojas de *C. obtusifolia* que han sido sometidas a esta técnica de desinfección. Si se comprueba lo anterior, se puede contribuir a la estandarización de un fitofármaco para tratar esta problemática de salud pública y a promover el crecimiento de pequeñas empresas que fortalecen la economía y la conservación de la biodiversidad mexicana.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto hipoglucemiante agudo de la infusión de hojas irradiadas de *Cecropia obtusifolia* Bertol. en ratas STZ-NA y determinar si los compuestos activos del extracto butanólico de la planta se modifican a lo largo del tiempo o por la irradiación gamma.

Objetivos particulares

Pruebas farmacobiológicas

- Evaluar el efecto hipoglucemiante agudo de la infusión de hojas de *C. obtusifolia* sin irradiar sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas STZ-NA
- Determinar si existe diferencia entre la infusión de hojas irradiadas y la infusión de hojas no irradiadas sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas STZ-NA.

Pruebas fitoquímicas

- Realizar pruebas de cromatografía en capa fina y HPLC a extractos butanólicos de diversas colectas de hojas de *C. obtusifolia* para estimar si la presencia de ácido clorogénico e isoorientina se modifica a lo largo del tiempo o por la irradiación gamma.

Irradiación

- Contribuir a la estandarización de una técnica de desinfección que no afecte la composición química de la planta, para su futura comercialización como un fitomedicamento.

HIPÓTESIS:

- La infusión de hojas de *C. obtusifolia* sin irradiar ejercerá un efecto hipoglucemiante agudo sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas STZ-NA
- No habrá diferencia sobre los niveles de glucosa plasmática entre el grupo de ratas STZ-NA tratado con la infusión de hojas irradiadas y el grupo tratado con infusión de hojas no irradiadas
- A través de técnicas cromatográficas se comprobará que en los extractos butanólicos de hojas de *C. obtusifolia* la presencia de ácido clorogénico e isoorientina no se modifica por la irradiación gamma ni a lo largo del tiempo.
- Se contribuirá a la estandarización de una técnica de desinfección que no afecte la composición química de la planta para su futura comercialización como un fitomedicamento.

METODOLOGÍA

1. Colecta de material biológico

Las hojas de *C. obtusifolia* fueron proporcionadas por el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM. El material biológico fue colectado en Ometepec, Guerrero en mayo de 2018. Se depositó un ejemplar de herbario con el número de colecta ETNOF-154767. La determinación taxonómica fue realizada por el Doctor Adolfo Andrade Cetto. Las hojas obtenidas se colocaron a 40°C durante una semana, en una cámara de secado ubicada en el laboratorio de ambientes controlados de la Facultad de Ciencias, UNAM. Una parte de ellas fue enviada al Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, donde fueron irradiada a una dosis de 10 kGy.

2. Pruebas farmacobiológicas

a. Cálculo de la dosis y elaboración de la infusión

La determinación de la dosis se hizo con base en la preparación tradicional: una persona de 70 kg de masa toma 20 g de planta disueltos en 500 ml de agua. Posteriormente se hizo el cálculo de la dosis que se debería administrar de acuerdo al peso de la rata, el resultado fue de 300 mg/kg.

De acuerdo a lo anterior, para la preparación de la infusión se pesaron y añadieron 300 mg de planta a 4 ml de agua hirviendo y se mantuvieron en agitación por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, la preparación se dejó enfriar a temperatura ambiente.

b. Animales experimentales

Se utilizaron un total de 30 ratas (hembras y machos) de la cepa Wistar, de aproximadamente 250 g, las cuales fueron obtenidas del bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Dichos organismos fueron sometidos a fotoperíodos de 12h/12h de luz/oscuridad a 25°C, con libre acceso a agua y alimento de la marca Rodent Laboratory Chow 5001 de Purina®. Todos los procedimientos se realizaron en estricto apego a *la NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.*

c. Inducción modelo hiperglucemia STZ-NA

Se realizó la inducción de hiperglucemia a ratas con previo ayuno de 12 h., utilizando el modelo STZ-NA de Masiello et al. (1998) con algunas modificaciones. Se inyectó NA a una dosis de 150 mg/kg (i.p.) disuelta en 2 ml/kg de solución fisiológica. Quince minutos después se inyectó STZ a una dosis de 65 mg/kg (i.v.) disuelta en 1 ml/kg en buffer de acetatos (0.9% de acetato de sodio en 105 mM de ácido acético).

d. Administración de tratamiento a grupos control y experimentales

Se formaron 5 grupos experimentales de 6 ratas, a cada uno de ellos se le administró un tratamiento específico vía oral mediante una cánula esofágica (**Tabla 2**).

Tabla 2. Tratamientos de cada grupo experimental.

	Grupo	Tratamiento	Dosis
	n=6		
Grupos control	Normoglucémico (N)	Solución fisiológica	-
	Hiperglucémico (H)	Solución fisiológica	-
	Hiperglucémico + Glibenclamida (H+G)	Glibenclamida	5mg/kg disueltos en 1.5 ml de solución fisiológica
Grupos experimentales	Hiperglucémico + Infusión de hojas de <i>Cecropia obtusifolia</i> sin irradiar (H+CSI)	Infusión de hojas de <i>C. obtusifolia</i> sin irradiar (Colecta mayo-2018-Ometepec Guerrero)	300 mg/kg disueltos en 4 ml de solución fisiológica
	Hiperglucémico + Infusión de hojas de <i>Cecropia obtusifolia</i> irradiado (H+CI)	Infusión de hojas de <i>Cecropia obtusifolia</i> irradiadas (Colecta mayo-2018-Ometepec Guerrero)	300 mg/kg disueltos en 4 ml de solución fisiológica

e. Medición de glucosa

Los animales experimentales se mantuvieron en ayuno previo de 12 horas. Se realizó un corte con tijeras quirúrgicas en la punta de la cola para obtener una gota de sangre de la vena caudal. Cada gota se colocó en una tira reactiva Accu-check® active que fue analizada en el glucómetro de la misma marca. Esta medición se realizó por duplicado en los tiempos 0, 60, 120 y 180.

f. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron analizados con el software Excel 2016. Se realizaron pruebas de análisis de varianza (ANOVA) con un valor de significancia de $p \leq 0.05$. Se compararon las medias de cada grupo contra su t0 (intragrupal) y las medias de cada grupo en cada tiempo (intergrupal).

3. Pruebas fitoquímicas

a. Obtención de extracto butanólico

De las hojas de *C. obtusifolia* colectadas en mayo del 2018, irradiadas y no irradiadas se realizó extracto butanólico por triplicado para reducir el margen de error en la elaboración. El proceso para obtenerlo fue el siguiente: se pesaron en balanza analítica 10.345 g de hojas y se molieron. Se realizaron dos extracciones en soxhlet de aproximadamente 12 h con 150 ml de hexano y 150 ml de metanol, respectivamente. Se concentró el extracto metanólico en el rotaevaporador a sequedad y bajo presión reducida y se le añadieron 25 ml de una mezcla de metanol-agua en proporción 8:2 y 25 ml de tetracloruro de carbono. Esta mezcla se colocó en un embudo de separación, se colectó la fase acuosa y se concentró, posteriormente se le añadieron 50 ml de una mezcla de butanol-agua 1:1. Nuevamente se realizó una separación de fases. Se concentró la fase orgánica, y de esta manera se obtuvo la primera fracción del extracto butanólico.

Con el fin de evitar pérdidas del extracto, a la fase acuosa de la separación anteriormente mencionada se le añadieron 20 ml de butanol. La mezcla obtenida se colocó en el embudo de separación, se colectó una nueva fase orgánica que fue concentrada, y de esta manera se obtuvo la segunda fracción del extracto butanólico. Se mezclaron las fracciones 1 y 2 y así se obtuvo el extracto butanólico concentrado total de *C. obtusifolia*.

b. Reconocimiento de metabolitos secundarios por CCF y HPLC

Para determinar si el tiempo transcurrido desde la colecta de la planta o su sometimiento al proceso de irradiación afecta la presencia de ácido clorogénico se realizó CCF de extractos butanólicos de *C. obtusifolia* de diversas muestras. Para ello 1 mg de cada muestra fue diluido en 1 ml de metanol y como grupo control se utilizó ácido clorogénico. Los extractos utilizados y sus características se indican en la **tabla 3**.

Se empleó una placa CCF sílica gel 60 F245 de 10 cm de largo x 5 cm de ancho. Se eluyó en una cámara de vidrio para CCF. La fase móvil se realizó colocando 2.6 ml de agua, 1.1 ml de ácido fórmico, 1.1 ml de ácido acético y 10 ml de acetato de etilo. Como revelador se utilizó ácido difenil burónico, un revelador de compuestos fenólicos.

Tabla 3. Características de los extractos butanólicos de *C. obtusifolia* y control ácido clorogénico.

Fecha de elaboración del extracto butanólico de <i>C. obtusifolia</i>	Irradiada	No irradiada
Noviembre 2018	•	•
	•	•
Octubre 2018	•	•
Agosto 2018	•	
Junio 2013		•
1997		•
Control	Concentración	
Ácido clorogénico	1 µl	10 µl

Las muestras de extracto butanólico de las hojas de *C. obtusifolia* colectadas en mayo del 2018 en Ometepec, fueron analizadas con HPLC, para ello se tomaron 10 mg de cada muestra y se disolvió con 1 ml de metanol-HPLC. En un HPLC marca Agilent technologies con una bomba 1260 infinity y un detector de arreglo de diodos, se inyectaron 3 µL de cada muestra bajo las condiciones cromatográficas que se indican en la **tabla 4**. Con un flujo de 0.3 ml/min se midió una longitud de onda de 320 nm utilizando una columna Luna® Omega 1.6 µm Polar C18 100 LC Colum 50 x 2.1 mm de la marca phenomenex®, y el análisis se llevó a cabo empleando el software OpenLab CDS Chem station.

Tabla 4. Condiciones cromatográficas bajo las que se realizó el análisis HPLC

Tiempo	A [%]	B [%]	C [%]
0.0	99.0	0.0	1.0
15.00	75.0	0.0	25.0
24.00	30.0	0.0	70.0
26.00	30.0	0.0	70.0
27.00	0.0	5.0	95.0
28.00	0.0	5.0	95.0
30.00	99.0	0.0	1.0

Donde A: ácido fórmico al 0.1%, B: metanol, C: Acetonitrilo

RESULTADOS

1. Pruebas farmacobiológicas

En la **tabla 5** y en la **gráfica 1** se presentan los resultados obtenidos de las pruebas farmacológicas y biológicas, los cuales son descritos a continuación:

Los valores promedio obtenidos de las mediciones de glucosa plasmática del grupo normoglucémico (N), no presentaron ningún cambio significativo a lo largo del experimento, manteniéndose en un rango de glucosa de 108 mg/dl a 112 mg/dl, lo cual también se puede apreciar en la **gráfica 1** que presenta una tendencia constante.

Respecto al grupo hiperglucémico (H) los valores se mantuvieron estables a lo largo del experimento y estadísticamente diferentes en todos los tiempos respecto a los valores del grupo N, dicho de otra manera, el grupo H presenta hiperglucemia constante a lo largo de los 180 minutos. Considerando lo anterior, resultó un grupo adecuado para evaluar el efecto del control positivo y los grupos experimentales.

El grupo hiperglucémico tratado con glibenclamida (H+G) presentó una disminución significativa de los niveles de glucosa respecto a H a partir del tiempo 60. Desde el tiempo 120, los valores de glucosa plasmática descendieron a niveles similares a los del grupo N. Ambos hechos demostraron el efecto hipoglucemiante que ejerce el fármaco tras su administración.

Por otro lado, el grupo experimental H+CSI, presentó una disminución significativa de los valores de glucosa plasmática respecto al grupo hiperglucémico (H) a partir del tiempo 60, aunque las mediciones continuaron disminuyendo en cada tiempo, el efecto hipoglucemiante fue moderado, pues al compararse los niveles de glucosa plasmática del grupo H+CSI vs el grupo H+G la diferencia significativa se mantuvo en los tiempos 120 y 180.

Finalmente, al comparar los valores obtenidos del grupo H+CSI vs H+CI, se puede ver que no presentaron ninguna diferencia estadística, observándose en la **gráfica 1** que la línea decreciente de ambas mediciones es similar. Se puede decir entonces, que la infusión de las hojas sin irradiar y la infusión de hojas irradiadas ejercen efecto hipoglucemiante semejante.

Tabla 5. Medias de los niveles de glucosa plasmática (mg/dl) \pm error estándar.

Grupo Tiempo (min)	Concentración de glucosa plasmática en mg/dl			
	n=6			
	t0	t60	t120	t180
N	112 \pm 2 ^A	110 \pm 4 ^A	108 \pm 3 ^A	109 \pm 2 ^A
H	195 \pm 6	206 \pm 9	193 \pm 8	182 \pm 8
H+G	188 \pm 8 ^E	159 \pm 13 * ^{B E}	103 \pm 4 * ^B	96 \pm 7 * ^B
H+CSI	193 \pm 7	175 \pm 1 * ^C	154 \pm 7 * ^C	138 \pm 6 * ^C
H+CI	187 \pm 3	163 \pm 8 * ^D	147 \pm 10 * ^D	132 \pm 10 * ^D

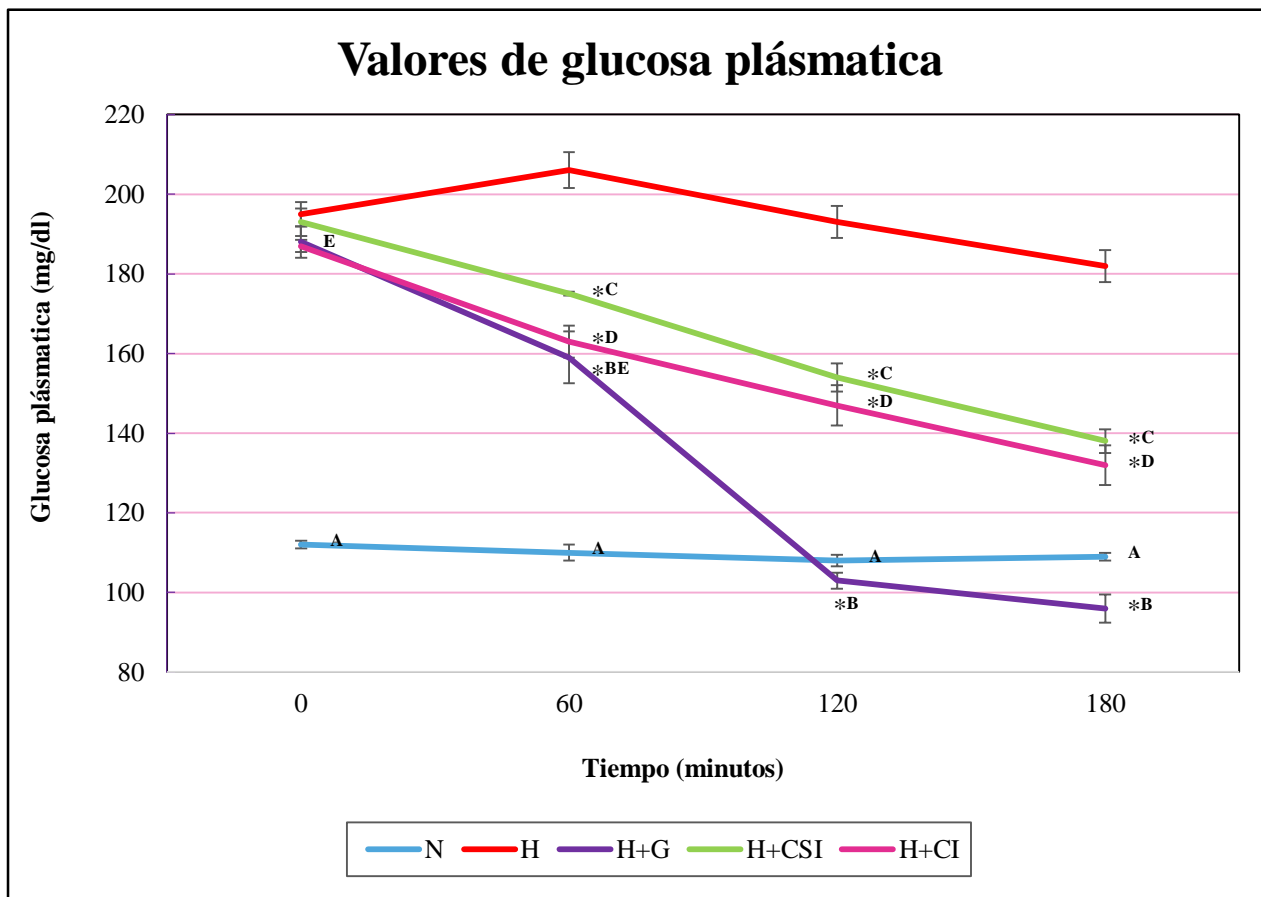
N: control normoglucémico

H: control hiperglucémico + solución fisiológica

H+G: control hiperglucémico + glibenclamida

H+CSI: experimental + *Cecropia obtusifolia* Bertol. sin irradiar

H+CI: experimental + *Cecropia obtusifolia* Bertol. irradiada



Gráfica 1. Medias de los niveles de glucosa plasmática (mg/dl) y error estándar

*Diferencia significativa contra tiempo 0 del mismo grupo ($p < 0.05$)

A: Diferencia significativa de **H** vs **N** ($p < 0.05$)

B: Diferencia significativa de **H** vs **H+G** ($p < 0.05$)

C: Diferencia significativa de **H** vs **H+CSI** ($p < 0.05$)

D: Diferencia significativa de **H** vs **H+CI** ($p < 0.05$)

E: Diferencia significativa de **N** vs **H+G** ($p < 0.05$)

2. Pruebas fitoquímicas

a. Cromatografía en capa fina

En la prueba de CCF (**figura 6**) se observó que el ácido clorogénico se encontraba presente en todas las muestras de extractos butanólicos de *C. obtusifolia*, sin importar que hayan sido sometidos a procesos de irradiación y sin importar el tiempo transcurrido desde la colecta.

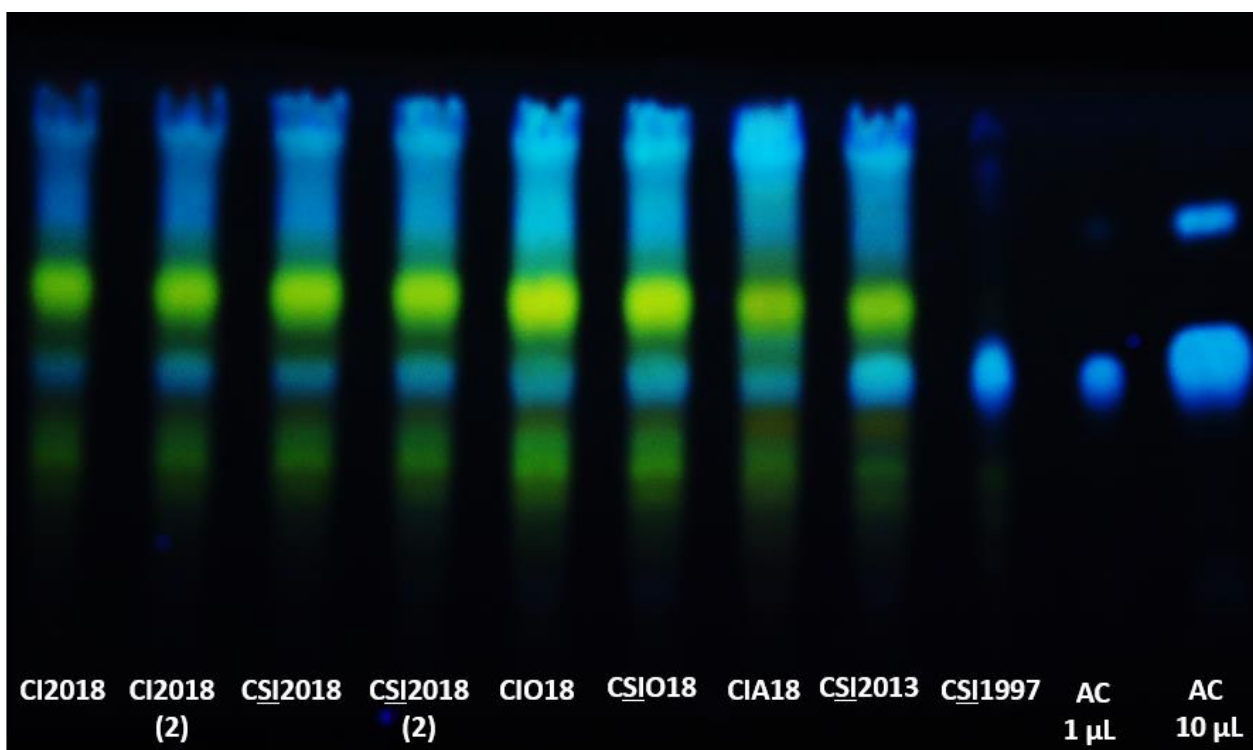


Figura 6: CCF de extractos butanólicos de diferentes colectas de *C. obtusifolia* (5 µL) y control ácido clorogénico (1 µL. y 10 µL)

CI2018: extracto butanólico de *C. obtusifolia* irradiada realizado en noviembre 2018 (muestra 1)

CI2018 (2): extracto butanólico de *C. obtusifolia* irradiada realizado en noviembre 2018 (muestra 2)

CSI2018: extracto butanólico de *C. obtusifolia* sin irradiar realizado en noviembre 2018 (muestra 1)

CSI2018 (2): extracto butanólico de *C. obtusifolia* sin irradiar realizado en noviembre 2018 (muestra 2)

CIO18: extracto butanólico de *C. obtusifolia* irradiada realizado en octubre 2018

CSIO18: extracto butanólico de *C. obtusifolia* sin irradiar realizado en octubre 2018

CIA18: extracto butanólico de *C. obtusifolia* irradiada realizado en agosto 2018

CSI2013: extracto butanólico de *C. obtusifolia* sin irradiar realizado en junio 2013

CSI1997: extracto butanólico de *C. obtusifolia* sin irradiar realizado en 1997

AC 1 µL: control ácido clorogénico 1 µL

AC 10 µL: control ácido clorogénico 10 µL

b. Perfil cromatográfico por HPLC

Las **figuras 7 y 8** muestran los perfiles cromatográficos HPLC de las colectas de mayo de 2018 de *C. obtusifolia* sin irradiar e irradiada en noviembre del 2018, a 320 nm respectivamente. El tiempo de retención del ácido clorogénico de la muestra no irradiada es de 9.189 min. mientras que el de la muestra irradiada es de 9.169 min. Respecto al pico de isoorientina, en la muestra no irradiada el tiempo de retención fue de 12.713 min, mientras que en la muestra irradiada fue de 12.702 min. Teniendo en cuenta lo anterior, los resultados reflejan que ambos compuestos activos se encuentran en ambas muestras y por lo tanto que el proceso de irradiación no afecta la presencia de estos metabolitos secundarios.

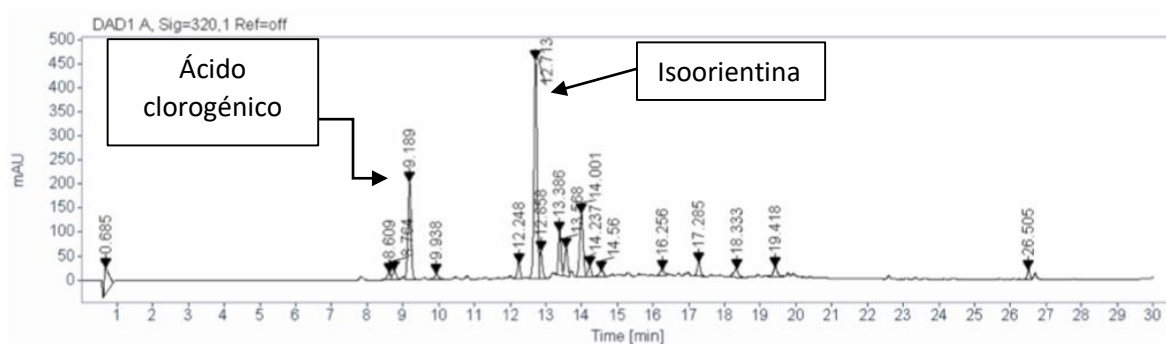


Figura 7. Perfil cromatográfico del extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia* (colecta de 2018 no irradiada).

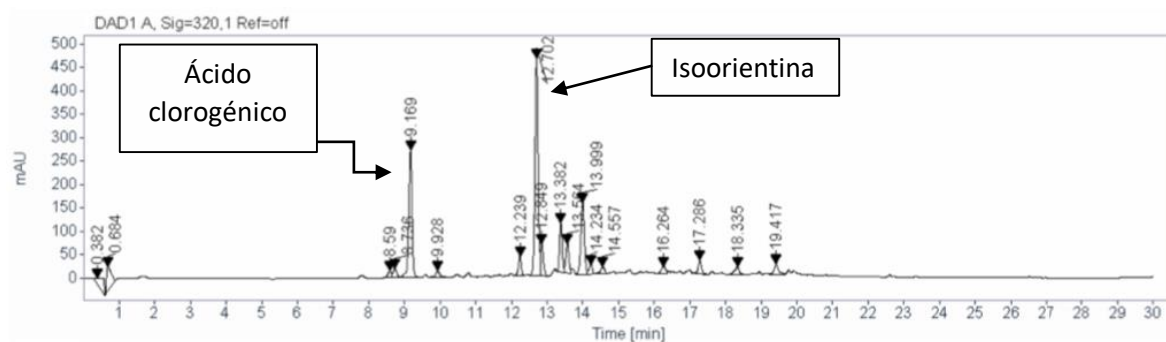


Figura 8. Perfil cromatográfico del extracto butanólico de *Cecropia obtusifolia* (colecta de 2018 irradiada).

DISCUSIÓN

1. Pruebas farmacobiológicas

Las ratas son animales ampliamente usados como biomodelos de estudio (Maldonado-Villamizar y Aquino-Guerra, 2016). En los estudios farmacológicos la experimentación animal resulta necesaria, sin embargo, se debe realizar bajo normas bioéticas tales como el “principio de las tres Rs”: Reducción, refinamiento y reemplazo (Aguilar-Catalán, Coyo-Asensio y Giménez-Terré, 2012).

Por otro lado, en cuanto a los resultados de las pruebas farmacobiológicas, el grupo normoglucémico presentó valores de glucosa plasmática de 112, 110, 108, 109 mg/dl en los tiempos 0, 60, 120 y 180, respectivamente. Basándose en los rangos diagnósticos en ratas Wistar propuestos por Urzúa-García (2011), las concentraciones de glucosa plasmática son constantes y normales, indicando que el metabolismo de estos individuos mantiene una homeostasis inalterada de la glucosa, ya que no fueron sometidos al efecto del fármaco STZ (Figuroa-García et al., 2016).

Los grupos sometidos al tratamiento con STZ-NA presentan hiperglucemia en comparación con los animales normoglucémicos, debido a la reducción de la masa de células β y los defectos metabólicos en éstas provocadas por los fármacos (Szkudelski, 2012). De manera que el modelo STZ-NA utilizado produce hiperglucemia estable y moderada, por lo cual resulta apropiado para estudios sobre la diabetes (Masiello et al., 1998).

Este modelo además presenta una respuesta al fármaco glibenclamida, ya que desde el tiempo 60 hubo una disminución de la glucosa plasmática, como era de esperarse de acuerdo a la literatura clínica (Rodríguez, 2015). El grupo tratado con glibenclamida, en el tiempo 180, alcanzó niveles de glucosa plasmática similares a los del grupo normoglucémico, coincidiendo con los estudios realizados por Amaya-Chávez *et al.* (2007) donde, a dosis de glibenclamida de 2.5 y 20 mg/kg en un modelo STZ-NA de ratas wistar, se observó que ambas dosis disminuyeron los niveles de glucosa en un 32.3 y 52.2 %, respectivamente, alcanzando niveles de glucosa similares a los del grupo testigo.

Por otro lado, los grupos experimentales H+CSI e H+CI, presentaron valores equiparables de glucosa plasmática en todos los tiempos y una disminución significativa respecto al grupo hiperglucémico a partir del tiempo 60. Este resultado coincide con lo reportado por Andrade-Cetto y Wiedenfeld (2001), quienes muestran que el extracto acuoso de esta planta, a dosis de 90 y 150 mg/kg, ejerce efecto hipoglucemiante a los 60 minutos. También informan que el efecto máximo del extracto se da después del minuto 180, lo cual coincide con las mediciones obtenidas en este estudio para el grupo tratado con la planta sin irradiar e irradiada (**tabla 5 y gráfica 1**).

Las pruebas fitoquímicas (**figura 6, 7 y 8**) de las distintas colectas de *C. obtusifolia* muestran la presencia de isoorientina y ácido clorogénico en todas ellas, por ende, estos compuestos podrían explicar el efecto hipoglucemiante ejercido por la planta que se observa en las pruebas farmacobiológicas (Andrade Cetto y Wiedenfeld, 2001).

La isoorientina estimula la captación de glucosa en un 210% en adipocitos de modelo murino, a través de una vía de señalización similar a la insulina, que induce la fosforilación de IR, PI3K y Akt. Esto a su vez estimula la expresión génica de componentes de la vía de señalización de la insulina, tanto en adipocitos insulinosensibles, como en adipocitos similares a los diabéticos (Alonso-Castro et al., 2012). Adicionalmente, este compuesto actúa como antioxidante, pues su estructura química proporciona una mayor estabilidad a los radicales libres formados (Deeptha et al., 2014) evitando que éstos activen mecanismos de daño tisular, responsables de las complicaciones clínicas de la DM (Acosta-Altamirano et al., 2011).

En ratas STZ-NA, la glibenclamida y el ácido clorogénico ejercen el mismo efecto hipoglucemiante después de 3 horas (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001). Inicialmente, este efecto se relacionó con la inhibición de las enzimas α -glucosidasas intestinales (Andrade-Cetto, Becerra y Cárdenas, 2008) y con el aumento de la secreción de insulina (Soto-Constantino, 2007). Sin embargo, en estudios posteriores se demostró que el ácido clorogénico actúa como inhibidor de la enzima glucosa-6-fosfatasa (Bassoli et al., 2008; Andrade-Cetto y Cardenas, 2010; Ong, Hsu y Tan, 2013), concretamente del transportador de G6P T1, sobre el cual tiene mayor especificidad (González-Mujica y Bermúdez, 2017), reduciendo así la producción de glucosa hepática y por lo tanto, ejerciendo un efecto hipoglucemiante. Adicionalmente, el ácido clorogénico estimula la expresión de GLUT4 mejorando la captación de glucosa en el músculo esquelético y aumenta la fosforilación de AMPK (lo cual, posiblemente estimula la secreción de la adiponectina), promoviendo la oxidación de los ácidos grasos (Ong et al., 2013). Tomando en cuenta estos antecedentes; la isoorientina y el ácido clorogénico resultan de amplio interés para futuras investigaciones farmacológicas que permitan el desarrollo de nuevos fármacos.

2. Pruebas fitoquímicas

Como se puede ver en la placa cromatográfica (**figura 6**), en todos los extractos butanólicos analizados está presente el compuesto ácido clorogénico, sin importar el año de la colecta o si la planta fue sometida a irradiación. Por otro lado, los perfiles cromatográficos de HPLC de la colecta de mayo del 2018 (**figuras 7 y 8**) indican que la composición química de *C. obtusifolia* no se modifica tras el proceso de irradiación, pues los compuestos ácido clorogénico e isoorientina se encuentran presentes en la muestra antes y después de ser sometida a esta técnica de desinfección. Jan et al. (2012), señalan que la irradiación de plantas medicinales no produce cambios químicos negativos ni pérdidas importantes de componentes activos, proteínas, aminoácidos esenciales, minerales, oligoelementos y de la mayoría de vitaminas. Esto ha sido demostrado por Koseki et al. (2002) en cuatro especies de plantas usadas en la medicina tradicional en Brasil (*Rosmarinus officinalis* Linné, *Nasturtium officinale* R. Br., *Cynara scolymus* Linnée y *Ocimum basilicum* Linné) las cuales, al ser irradiadas, no presentaron cambios en la cantidad y estructura de flavonoides, aceites esenciales y compuestos fenólicos.

Ya que los compuestos activos responsables del efecto hipoglucemiante no son modificados por el proceso de irradiación, entonces tampoco tendrían que presentarse cambios en la acción terapéutica de la planta administrada mediante infusión (Jan et al., 2012), esto se aprecia en las pruebas farmacológicas, pues el efecto hipoglucemiante de *C. obtusifolia* se presentó de igual manera en los grupos tratados con la muestra sin irradiar, así como en la muestra irradiada (**tabla 5 y gráfica 1**).

Como se observa en la prueba de CCF (**figura 6**) el ácido clorogénico estuvo presente en todas las muestras de extractos butanólicos de *C. obtusifolia*, sin importar el tiempo transcurrido desde la colecta. Para garantizar que la acción terapéutica perdure, puede considerarse el desarrollo de fitomedicamentos en forma de capsulas, utilizando el extracto butanólico como excipiente, el cual además serviría como un agente antioxidante y antibacterial (Hussein, 2016).

3. Irradiación

a. Desinfección

Las plantas medicinales que son utilizadas en las comunidades pueden contener altos niveles de microorganismos aeróbicos y hongos (hasta 10^6 UFC/g en hojas de las especies *Ginkgo biloba L.* y semillas de *Paullinia cupana*) (Rabelo-Soriani, Cristina-Satomi y Pinto, 2005), por lo que para prevenir enfermedades transmitidas a los seres humanos por éstos y otros organismos patógenos, debe emplearse un proceso de desinfección tal como la irradiación con rayos gamma. Esta técnica es capaz de mantener a niveles aceptables la cantidad de tales microorganismos para la seguridad sanitaria, sin modificar los principios activos de cada especie vegetal (Rabelo-Soriani et al., 2005). Además, la irradiación con rayos gamma es un proceso perdurable, pues garantiza la inocuidad incluso cuando la planta debe ser almacenada por un largo plazo (Aquino et al., 2010).

b. Optimización de dosis

Los valores de irradiación señalados son variables en los trabajos existentes sobre plantas medicinales que han sido sometidas a irradiación gamma (Acosta de la Luz, 2013). Una dosis efectiva es aquella que permite disminuir o eliminar los microorganismos patógenos sin modificar los principios activos de cada especie (Rabelo-Soriani et al., 2005).

De acuerdo a los resultados, no hubo cambios en el rendimiento y la composición de los compuestos activos de *C. obtusifolia* tras ser irradiada a 10 kGy, dosis que Katusin et al. (1988) indican como óptima para irradiar las plantas medicinales comercializadas. Sin embargo, aún a dosis mayores de 10 kGy, ha sido comprobado que las propiedades terapéuticas de las especies vegetales se conservan (Jan et al., 2012).

c. Otros beneficios

Además de la seguridad sanitaria, la irradiación puede aumentar la concentración de varios compuestos químicos de interés terapéutico en algunas especies de plantas aromáticas y medicinales. Por ejemplo, Pereira et al. (2017) demostraron que el tratamiento de irradiación a dosis de 10 kGy en la infusión de *Aloysia citrodora L.* aumentó la concentración de verbascosido (compuesto con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas), mientras que en la infusión de *Mentha x piperita L.* aumentó el compuesto eriodictyol-O-rutinosido (conocido por su actividad de eliminación de los fármacos libres intracelulares); ellos explican que esto puede deberse a que durante la irradiación, algunos enlaces pueden romperse, dando como resultado moléculas más pequeñas, o bien, que las altas dosis de irradiación pueden conducir a una

mayor capacidad de extracción del compuesto. Esta información puede considerarse para un mayor aprovechamiento de ciertos metabolitos secundarios de interés.

d. Citotoxicidad

Según la especie, el tipo de radiación, la dosis aplicada, y el tiempo de exposición, algunas plantas pueden llegar a tener efectos citotóxicos (Pereira et al., 2017), por lo cual, este tipo de estudios son obligatorios antes del uso de cualquier planta medicinal.

Respecto a *C. obtusifolia*, Martínez-Toledo et al. (2008), confirmaron que las hojas de esta planta no ejercen efectos citotóxicos o genotóxicos, sin embargo, no existe un estudio similar con hojas irradiadas, por lo cual como perspectiva podría realizarse un estudio similar con la planta sometida a este proceso de desinfección para garantizar que su uso es seguro.

4. Aprovechamiento y comercialización de nuevas especies basados en estudios etnofarmacológicos y clínicos

El uso de plantas medicinales ha atraído mucho interés por parte de las empresas farmacéuticas para su comercialización (Calixto, 2000). México es un país megadiverso y cuenta con un amplio registro de especies que pueden ayudar a tratar varias enfermedades (González-Stuart, 2010). Tras cuatro años de trabajo conjunto de la Federación Nacional de la Industria Herbolaria, Medicina Alternativa, Tradicional y Naturista A.C. (FNIHMATN) y la COFEPRIS, el 17 de octubre de 2018, Julio Sánchez y Tépoz anunció la liberación de 18 plantas medicinales herbolarias para su uso seguro y eficaz en té, infusiones o suplementos alimenticios, en beneficio de la salud de la población (COFEPRIS, 2018).

En el presente estudio de pruebas farmacológicas preclínicas se demuestra que *C. obtusifolia* es una planta con potencial terapéutico en el tratamiento de la DM2 y al ser sometida a irradiación gamma, se garantiza su inocuidad, por lo que podría pasar a la fase de ensayos clínicos bien controlados y aleatorizados en humanos (Calixto, 2000).

Siguiendo la normativa mexicana, esta especie podría considerarse como una candidata para su inclusión en la lista de plantas medicinales herbolarias antes mencionada. De esta manera, se podría desarrollar y comercializar un nuevo producto ya sea en forma de infusión o en forma de capsulas, que tenga calidad, seguridad y eficacia, el cual ayude a disminuir las complicaciones de la diabetes que impactan en la calidad de vida de las personas que la padecen. Además, se fomentaría el desarrollo de microempresas que promueven el uso de la medicina tradicional de una manera sustentable, que generan empleos y que, por ende, contribuyen al crecimiento económico del país (Secretaría de Economía, 2012).

CONCLUSIONES

La infusión de hojas de *C. obtusifolia* colectadas en Ometepec, Guerrero, con el número de colecta ETNOF-154767, ejerce un efecto hipoglucemiante agudo sobre los niveles de glucosa plasmática en el modelo de hiperglucemia STZ-NA a partir del tiempo 60, dicho efecto no se modifica aún si las hojas son sometidas a irradiación gamma para ser desinfectadas.

Respecto a las pruebas fitoquímicas, los resultados de las cromatografías realizadas a los extractos butanólicos de diversas colectas demostraron que la presencia de ácido clorogénico e isoorientina (los posibles metabolitos secundarios responsables del efecto hipoglucemiante de la planta) no se modifica a lo largo del tiempo o por la irradiación gamma.

Dichas las implicaciones anteriores, se permite llevar a cabo la optimización de la dosis de irradiación gamma de 10 kGy, que asegura la inocuidad de la planta, sin afectar su composición química y por consiguiente sin cambiar su acción terapéutica. Todo esto con el fin de contribuir a su futura comercialización como un fitomedicamento por la cooperativa Pura Natura, siguiendo las normativas de la Secretaría de Salud.

REFERENCIAS

- Acosta de la Luz, L. (2002). *Desinfección de plantas medicinales, principios básicos*. Herbociencia. <http://www.herbotecnia.com.ar/c-public-004.html>
- Acosta de la Luz, L. (2003). Sobre la desinfección de las drogas vegetales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 8(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000200001&lng=es&tlng=es.
- Acosta-Altamirano, G., Frías de León, M. G., Reyes-Montes, M. R., Vargas-Hernández, V. y Suárez-Cuenca, J. A. (2011) Radicales libres y mecanismos de daño tisular en la diabetes mellitus. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 54(3), 46-53.
- Acosta-Recalde, P., Zully-Vera, G., Morinigo, M., Maidana, G. M y Samaniego, L. (2018). Uso de plantas medicinales y fitoterápicos en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 16(2), 6-11. [https://dx.doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2018.016\(02\)06-011](https://dx.doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2018.016(02)06-011)
- Administración de Medicamentos y Alimentos. (2016) *Food Irradiation: What You Need to Know*. <https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/IrradiatedFoodPackaging/ucm261680.htm>
- Agudelo-Zapata, Y., Burgos-Cárdenas, A. J., Díaz-Martínez, A. J. y Pinilla-Roa A. E. (2015). Inhibidores de dipeptidil dipeptidasa-IV: de la teoría a la práctica. *Revista de la Facultad de Medicina*, 63(2), 259-270. <https://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v63n2.48820>
- Aguilar-Catalán, A., Coyo-Asensio, N. y Giménez-Terré, A. (2012) *Bioética en experimentación animal*. Facultad de Veterinaria (UAB). <https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/85719/bioexpani.pdf>
- Almaraz-Abarca, N., J. A. Ávila-Reyes, E. A. Delgado-Alvarado, Naranjo-Jiménez, J. y Herrera-Corral. (2006). El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto. *VidSupra* 1(2), 39-50.
- Alonso-Castro, A. J., Miranda-Torres, A. C., González-Chávez M. M y Salazar-Olivo, L. A. (2008) *Cecropia obtusifolia* Bertol. and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. *Journal of Ethnopharmacology* 120(3), 458- 464.
- Alonso-Castro, A. J., Zapata-Bustos, R., Gómez-Espinoza, G., y Salazar-Olivo, L. A. (2012). Isoorientin Reverts TNF- α -Induced Insulin Resistance in Adipocytes Activating the Insulin Signaling Pathway. *Endocrinology*, 153(11), 5222–5230. doi:10.1210/en.2012-1290
- Alvarado-Ríos, P. A. (2016). *Efecto hipoglucemiante del jugo fresco y liofilizado de la corteza de Cecropia obtusifolia Bertol en ratas STZ-NA* [tesis de licenciatura, UNAM]. Repositorio Institucional UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2016/abril/0743871/Index.html>
- Alzate, R. E. J. (2014) *Tipos de cromatografía*. Universidad Tecnológica de Pereira. <http://blog.utp.edu.co/docenciaedwin/files/2014/09/tipos-cromatografia.pdf>
- Amaya-Chávez, A., Dolores-Ledezma, E., Álvarez-Sánchez, P., Ferreira-Rubio, G., Gómez-Oliván, L., y Galar-Martínez, M. (2007). Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglicémica de la glibenclámda. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38 (3), 5-11.
- Andrade-Cetto, A. y Cárdenas-Vázquez R. (2010). Gluconeogenesis inhibition and phytochemical composition of two *Cecropia* species. *Journal of Ethnopharmacology* 130(1), 93- 97.
- Andrade-Cetto, A. y Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99(3), 325-348.
- Andrade-Cetto, A. y Wiedenfeld, H. (2001). Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 78(2-3), 145-149
- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J. y Cárdenas-Vázquez, R. 2008. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 116(1), 27-32.
- Aquino, S., Gonçalves, E., Rossi, M. H., Nogueira, J. H., Reis, T. A. y Corrêa, B. (2010). Evaluation of fungal burden and aflatoxin presence in packed medicinal plants treated by gamma radiation. *Journal of Food Protection*. 73(5), 932-937.
- Asociación Americana de Diabetes (ADA). (2018). Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care. *Diabetes Care*, 41 (1), 13–27.

- Barraza-Lloréns, M., Guajardo-Barrón, V., Picó, J., García, R., Hernández, C., Mora, F., Athié, J., Crable, E. y Urtiz, A. (2015) *Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013*. Funsalud.
- Bassoli, B. K., Cassolla, P., Borba-Murad, G. R., Constantin, J., Salgueiro-Pagadigorria, C. L., Bazotte, R. B., ... de Souza, H. M. (2008). Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochemistry and Function*, 26(3), 320–328.
- Cadena-Zamudio, J. D., Nicasio-Torres, M. P., Guerrero-Analco, J. A. e Ibarra-Laciette, E. (2019). Ethnopharmacological studies of *Cecropia obtusifolia* (Urticaceae) and its importance in the treatment of type 2 diabetes mellitus: A mini-review. *Acta Botánica mexicana*, (126), 1-12
- Calixto, J. B. (2000). Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents) of herbal drugs Brazilian. *Journal of Medical and Biological Research*, (33), 179-189
- Cervantes-Villagrana, R. D. y Presno-Bernal, J. M. (2013). Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Rev Endocrinol Nutr* 21 (3), 98-106
- Chinou, I. (2008). Primary and secondary metabolites and their biological activity. En M. Waksmundzka-Hajnos, J. Sherma y T. Kowalska (Eds.), *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry* (pp 59–76). CRC
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (2018). *COFEPRIS anuncia la liberación de 18 plantas medicinales, para su uso legal*. Comunicado 059. <https://www.gob.mx/cofepris/prensa/cofepris-anuncia-la-liberacion-de-18-plantas-medicinales-para-su-uso-legal?idiom=es>
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). (2017). *Ficha Cecropia obtusifolia Bertol.* http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/49-morac3m.pdf
- Dalama, B. y Mesa, J. (2016). Nuevos hipoglucemiantes orales y riesgo cardiovascular. *Cruzando la frontera metabólica. Revista Española de Cardiología*, 69(11), 1088–1097.
- De La Higuera-Lopez-Frias, M., Valdés-Hernández, S., y Soriguer-Escofet, F. (2007). GLP-1. Generalidades e interacción incretinas-nutrientes. *Revista Clínica Española*, 207 (10), 501-504
- Deepha, V, Praveena, R, Sivakumar, R. y Sadasivam, K (2014). Experimental and theoretical investigations on the antioxidant activity of isoorientin from *Crotalaria globosa*. *Spectrochim (Acta A)* 121, 737–745
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A. y Weiss, R., (2015). Type 2 diabetes mellitus, *Nature Reviews Disease Primers*, 1, (15019), 1-15
- Díaz Naya, L. y Delgado Álvarez, E. (2016). Diabetes mellitus. Criterios diagnósticos y clasificación. Epidemiología. Etiopatogenia. Evaluación inicial del paciente con diabetes. *Medicine* 12 (17), 935-946
- Escorcía, S. (2009) Hipoglucemia por fármacos antidiabéticos, *Revista de Endocrinología y Nutrición* 17 (3),120-128
- Facultad de Química, UNAM. (2007). *Técnicas cromatográficas*. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf
- Federación Internacional de Diabetes (FID). (2017). *Diabetes Atlas* (8ª edición). International Diabetes Federation.
- Federación Mexicana de Diabetes (09/11/2014). *¿Qué es la Prediabetes?* Ciudad de México: Federación Mexicana de Diabetes. <http://fmdiabetes.org/que-es-la-prediabetes/>
- Figueroa-García, M. C, Rivera-Valencia, M., Sosa-Durán, E. E, Saavedra-Molina, F. A. y Mejía-Zepeda, R. (2016). Perfil glicémico durante el ayuno en ratas macho-Wistar con diabetes tipo 2, *Revista Hospital Juarez Mexico* 83(1 y 2), 23-30
- Figueroa, P.D., Reynals D. E., Vidal-Puig, A. y Aschner M. P. (2016) Capítulo 222: diabetes mellitus. En: Rozman B. C., Cardellach L. F (Ed.) Farreras Rozman. *Medicina Interna decimoctava edición*. (pp.1824-1862). Elsevier
- Fundación Mídete. (2016). *Asumiendo el control de la diabetes*. http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/11/FMídete_Asumiendo-Control-Diabetes-2016.pdf
- Gallegos-Zurita, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es&tlng=es.

- Gálvez, R. J. C. y Buitimea, C. G. V. (2008). Uso de la radiación en la conservación de alimentos. *Revista de la Universidad de Sonora* 22, 29-31
- García de Alba, G. J. E., Ramírez, H. G.B. C. y Robles, A. G, Zañudo, H., Salcedo R. A. y García de Alba, V. J. E. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*, (39), 29-44.
- González-Mujica, F. y Bermúdez, J. (2017). *El sistema de la glucosa-6-fosfatasa: Algunos de sus inhibidores*. Editorial Académica Española.
- Gullace, F. A. y Caturini, E. D. (2002). *El Animal de Laboratorio Como Reactivo Biológico*. <http://dpd.fvet.uba.ar/cartelera/00013655.pdf>
- Heisler, E.V., Budó, M. L. D. , Schimith M. D. , Badke M. R. , Ceolin S. y Heck, R M.. (2015). Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. *Enfermería Global*, 14(39), 390-403. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412015000300018&lng=es&tlng=es.
- Henriksen, E. J. (2019). Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. En Ronald Ross W. R y Preedy R. V. (Ed.). *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes* (pp. 1-15) Elsevier
- Herrera-Arellano, A., Aguilar-Santamaria, L., García Hernández, B., Nicasio-Torres, P. y Tortoriello, J. (2004) Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics, *Phytomedicine* 11, 561–566
- Hussein R. A. (2016) Evaluation Antioxidant and Antibacterial Activities of n-Butanol Fraction of *Conocarpus Erectus* L. Leaves Extract. *International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research* 4(6), 394-400
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2014) *Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 en el primer nivel de Atención*. http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/718_GPC_Tratamiento_de_diabetes_mellitus_tipo_2_/718GER.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2018). *Características de las defunciones registradas en México durante 2017*. Comunicado de prensa núm. 525/18. <http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodem/defunciones2017.pdf>
- Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) (2010). Irradiación de alimentos. *Revista contacto nuclear* 57. <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/Irradiacion%20de%20alimentos.pdf>
- Iturbide, G. J. L. y López, M. B. E.. (2004) Irradiación de alimentos. *Revista Ciencia* 55, 53-62
- Jan, S., Parween, T., Siddiqi, T. O. y Mahmooduzzafar. (2012). Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products. *Environmental Reviews*, 20(1), 17–39.
- Jinich, H., Lifshitz, A., García, M J. A. y Ramiro H. M. (2017) *Síntomas y signos cardinales en las enfermedades* (7ª edición). Manual moderno.
- Jódar, E. (2014). Características y tipos de agonistas del receptor de GLP-1. Una oportunidad más para la individualización terapéutica. *Medicina Clínica*, 143, 12–17
- Katusin, RB, Matic, S, Razem, D y Mihokovic, V (1988). Radiation decontamination of tea herbs. *Journal of Food Science and Technology* 53, 1120–1126
- Koseki, P.M., Villavicencio, A.L.C.H., Brito, M.S., Nahme, L.C., Sebastiao, K.I., Rela, P.R., Almeida-Muradian, L.B., ManciniFilho, J. y Freitas, P.C.D. (2002). Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Radiat. Phys. Chem.* 63(3–6), 681– 684.
- Lebovitz, H. E. (2007). Capítulo 41: tratamiento de la hiperglucemia con antidiabéticos orales en la diabetes tipo 2. En: Kahn C. R., Weir G. C., King G. L., Jacobson A. M., Moses A. C., Smith R. J., Joslin's *Diabetes Mellitus 14 ed* (pp. 687- 710). Lippincott Williams & Wilkins
- Lenehan, C. E. (2013). Chromatography: Basic Principles. En: Siegel, J. A. y Saukko, P. J. (Ed.), *Encyclopedia of Forensic Sciences, 2nd ed*, Vol.3, pp. 573-578. Academic Press.
- Lewis, S. W. y Lenehan, C. E. (2013). Liquid and Thin-Layer Chromatography, en Siegel, J. A. and Saukko, P. J. (ed), *Encyclopedia of Forensic Sciences, 2nd ed*, Vol.3, pp. 586-589. Academic Press.

- Ley General de Salud. (2007). www.salud.gob.mx/unidades/cdi/legis/lgs/ley_general_de_salud.pdf
- Llinas-Castro, R., Alvis-Estrada, L. y Mendoza-Goez, L. (2017). Evaluación de la prescripción de glibenclamida en diabéticos tipo 2. *Rev Univ Ind Santander Salud*. 49(1), 9-15.
- Maldonado-Villamizar, J. y Aquino-Guerra, A. (2016). Experimentación con biomodelos animales en ciencias de la salud, *Avances en Biomedicina* 5 (3), 173-177.
- Martínez-Toledo, V., Ordáz-Tellez, M.G., Castañeda-Sortibrán, A.N., Andrade-Cetto, A. y Rodríguez-Arnaiz, R. (2008). Genotoxicity testing of *Cecropia obtusifolia* extracts in two in vivo assays: the wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila* and the human cytokinesis-block micronucleus test. *Journal of Ethnopharmacology* 116(1), 58-63.
- Masharani, U. y German, M. S. (2012). Capítulo 17: Hormonas pancreáticas y diabetes mellitus En: Gardner D. G. y Shoback D. (Ed.), *Greenspan. Endocrinología básica y clínica*, (9ª edición) (pp. 573-674). McGraw-hill interamericana
- Masiello, P., Broca C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli M. y Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229.
- Mediavilla-Bravo, J. J. (2014). Aportaciones de los SGLT-2 y nuevos fármacos en investigación. *Semergen*, 40(2), 56-62.
- Meyer, V. R. (2013). Chromatography | overview. *Reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering*.
- Morales, G. J. A., García, D. B. A., Madrigal S. E. O. y Ramírez, F. C. (2008). *Diabetes*. Universidad Nacional Autónoma del estado de Hidalgo.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO (1999). *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Diario oficial de la federación. México
- Norma Oficial Mexicana NOM-072-SSA1 (2012). *Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios*. Diario oficial de la federación. México
- Norma Oficial Mexicana NOM-248-SSA1 (2011). *Buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de remedios herbolarios*. Diario oficial de la federación. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1 (2009). *Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*. Diario oficial de la federación. México
- Ocegueda, S., Moreno E. y Koleff P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversidad* 62, 12-15
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., y Olokoba, L. B. (2012). Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. *Oman Medical Journal* 27(4), 269–273.
- Ong, K. W., Hsu, A. y Tan, B. K. H. (2013). Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical Pharmacology*, 85(9), 1341–1351.
- Ortigosa J. (2006,05,03) *Medicina tradicional / Etnofarmacología*. Cienciorama. <http://www.cienciorama.unam.mx/#!titulo/153/?medicina-tradicional---etnofarmacologia>
- Papadakis M. A., McPhee S. J. y Rabow M. W. (2017) *Diagnóstico clínico y tratamiento* (56a. edición). Mc Graw Hill interamericana
- Pereira, E., Pimenta, A. I., Calhella, R. C., Antonio, A. L., Barros, L., Santos-Buelga, Cabo-Verde, S. y Ferreira, I. C. F. R. (2017). Infusions of gamma irradiated *Aloysia citrodora* L. and *Mentha x piperita* L.: Effects on phenolic composition, cytotoxicity, antibacterial and virucidal activities. *Industrial Crops and Products*, 97, 582–590.
- Pérez-Alonso, N. y Jiménez, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. *Bioteología Vegetal* 11 (4) 195-211
- Powers, C. A. (2016). Capítulo 418 Diabetes Mellitus: complicaciones. En: D. L. Kasper, S. L. Hauser, J. L. Jameson, A. S. Fauci, D. L. M. Longo D. y J. Loscalzo (Eds.) *Harrison principios de medicina interna 19a edición volumen 2* (pp. 2399-2406) Interamericana, McGraw Hill
- Punthakee, Z., Goldenberg, R., y Katz, P. (2018). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*, 42, S10–S15.

- Pura Natura (2013). *Control natural de la diabetes tipo 2*, México: Pura Natura. <https://puranaturamx.wordpress.com/2013/12/02/control-natural-de-la-diabetes-tipo-2/>
- Rabelo-Soriani, R., Cristina-Satomi, L., y Pinto, T. de J. A. (2005). Effects of ionizing radiation in ginkgo and guarana. *Radiation Physics and Chemistry*, 73(4), 239–242.
- Rangel, U. W. (2010). Aplicación de la irradiación gamma, *Revista Contacto Nuclear* 57. <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/Aplicacion%20de%20la%20irradiacion.pdf>
- Revilla-Monsalve, M. C., Andrade-Cetto, A., Palomino-Garibay, M. A., Wiedenfeld, H. e Islas-Andrade, S. (2007). Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(3), 636–640.
- Rigo-Bonnin, R., Canalías-Reverter, F., Esteve-Poblador, S., Gella -Tomás, F. J., González de la Presa, B. y López-Martínez, R. M. (2018). Desarrollo de procedimientos de medida basados en la cromatografía líquida de alta resolución. *Revista Del Laboratorio Clínico*, 11(3), 137–146.
- Rodríguez, C. R. (2015). *Vademécum Académico de Medicamentos*. Editorial Mc Graw Hill Interamericana
- Rodríguez-García, CM, Dorantes-Euan, A. y Peraza-Echeverría, L. (2016). Las plantas curativas de la costa yucateca. *Ciencia* 67 (4), 74-79
- Rodríguez-Rivera, N., Cuautle-Rodriguez, P. y Molina Guarneros, J. A. (2017). Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México, *Revista del Hospital Juárez de México*, 84(4), 203-211.
- Rojas, A, L. Jaramillo, J, C. y Lemus, B, M. (2015). *Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios de plantas*. Universidad Técnica de Machala.
- Romero, G. A. S (2002). *Cromatografía, curso de métodos*. Instituto de biotecnología, UNAM. <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/Cromatografia.pdf>
- Rull, R. A. y Gómez, P. F. J. (2011). Capítulo 22 diabetes mellitus. En: Narro R. J., Rivero S. O. y López B. J. J. (Ed.), *Diagnóstico y tratamiento en la práctica médica 4ª edición* (pp.207-223). Manual moderno
- Samarío-Román, J. S. (2013). *Efecto de la administración aguda de extractos de Cecropia Obtusifolia Bertol en la concentración plasmática de insulina en ratas NAD-STZ* [tesis de Maestría, UNAM]. Repositorio Institucional UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2013/septiembre/0701704/Index.html>
- Sandoval, A. G., Manzur . F., Gómez, D. y Gómez, A. C. (2009). Receptores nucleares y metabolismo de lípidos: implicaciones cardiovasculares. *Revista Colombiana de Cardiología*, 16(1), 29-34.
- Schlienger, J. L. (2013). Complications du diabète de type 2. *La Presse Medicale*, 42, (5), 839-848.
- Secretaría de Economía. (2012). Microempresas. CDMX. <http://www.2006-2012.economia.gob.mx/mexico-emprende/empresas/microempresario>
- Secretaría de Salud. (1999). Acuerdo por el que se determinan las plantas prohibidas o permitidas para tés, infusiones y aceites vegetales comestibles. *Diario Oficial de la Federación*.
- Serra-Sansone, M. D. P. (2016). Actualización en medicamentos antidiabéticos y riesgo cardiovascular. *Revista Uruguaya de Cardiología*, 31(3), 522-546.
- Sierra, S. M. A., Barros, A. R., Gómez, P. D., Mejía, T. A. y Suarez, R. D. (2018) *Productos naturales: metabolitos secundarios y aceites esenciales*. Fundación Universitaria Agraria de Colombia (UNIGRARIA)
- Sincholle, D., Cotta, M., Guedon, D. y Coll, R. (1987) Medicinal plants and decontamination. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 62(1), 14-18.
- Soto-Constantino, A. L. (2007). *Efecto de dos plantas mexicanas, con actividad hipoglucemiante, Cecropia obtusifolia Bertol y Mosannonna depressa (Baill) Chatrou, sobre la secrecion de insulina en ratas diabeticas n-STZ* [tesis de licenciatura, UNAM]. Repositorio Institucional UNAM. <http://132.248.9.195/pd2007/0616728/Index.html>
- Subramoniam, A. (2016). *Antidiabetes Melittus Plants: Active Principles, Mechanisms of Action and Sustainable Utilization*. CRC Press.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*, 237(5), 481–490.
- Tahrani, A. A, Barnett, A. H. y Bailey, C. J. (2016). Pharmacology and therapeutic implications of current drugs for type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology* 12, 566–592

- Tebar, M. F. J. y Escobar, J. F. (2009). *La Diabetes en la práctica clínica*. Ed. Médica Panamericana
- Tiwari, R. (2015) Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science* 3 (5), 661-670.
- Torrades, S. (2005) Diabetes tipo 2: Cómo frenar la lipotoxicidad. *Offarm*, 24(4), 118-122
- Velasco-Guzmán, B. J. y Brena-Ramos, V. M. (2014) Diabetes Mellitus Tipo 2: Epidemiología y Emergencia en Salud. *Salud y Administración* 1(2), 11-16.
- Villaseñor, J. L. (2016). Lista de verificación de las plantas vasculares nativas de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 87(3), 559-902.