



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
**IZTACALA**

**“AISLAMIENTO Y ELUCIDACION PARCIAL  
DE UN PRINCIPIO ACTIVO HIPOGLUCEMIANTE  
DE LA PLANTA CECROPIA OBTUSIFOLIA BERTOL”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**B I O L O G O**

P R E S E N T A :

**JOSE GUILLERMO AVILA ACEVEDO**

Los Reyes Iztacala, Edo. de México

1986



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

A LA MEMORIA DE MI PADRE,

LUIS C. AVILA GARCÍA:

"EN DONDE QUIERA QUE ESTÉS SIEMPRE TE SIENTO  
EN CASA".

AL SER QUE HA SIDO LA INSPIRACIÓN DE MI VIDA, PUES  
CON SU EJEMPLO COTIDIANO ME HA ENSEÑADO QUE EL TRA-  
BAJO ARDUO ES LA BASE DEL ÉXITO EN CUALQUIER ACTI-  
VIDAD, ADEMÁS DE HABERME REGALADO LO MÁS VALIOSO  
QUE TENGO... LA VIDA.

CON AMOR A MI MADRE:

ESTHER ACEVEDO VIUDA DE AVILA.

A MIS HERMANOS:

LIDIA

JORGE

ROSALÍA

PATRICIA

ESTHER

LUIS.

CON CARINO.

A MI TIO NINO:

POR HACER LAS VECES DE MI PADRE.

"LA ADVERSIDAD PODRÁ QUITARTE EL TRIUNFO  
PERO NO LA GLORIA".

A LA MEMORIA DE FERNANDO (EL "NANOS"), MI AMIGO:

*"Mis amigos son gente cumplidora  
que acuden cuando saben que yo espero  
si les roza la muerte disimulan  
que para ellos la amistad es lo primero".*

*Serrat.*

A TODOS LOS COMPAÑEROS DEL LABORATORIO DE INVESTIGACION  
EN PRODUCTOS NATURALES Y EN ESPECIAL A MIS AMIGOS:

JOSÉ LUIS, HÉCTOR, ARMANDO, AGUSTÍN Y K'NITO.

*"Mis amigos son sueños imprevistos  
que buscan sus piedras filosofales  
rondando los sordidos arrabales  
donde bajan los dioses sin ser vistos".*

*Serrat.*

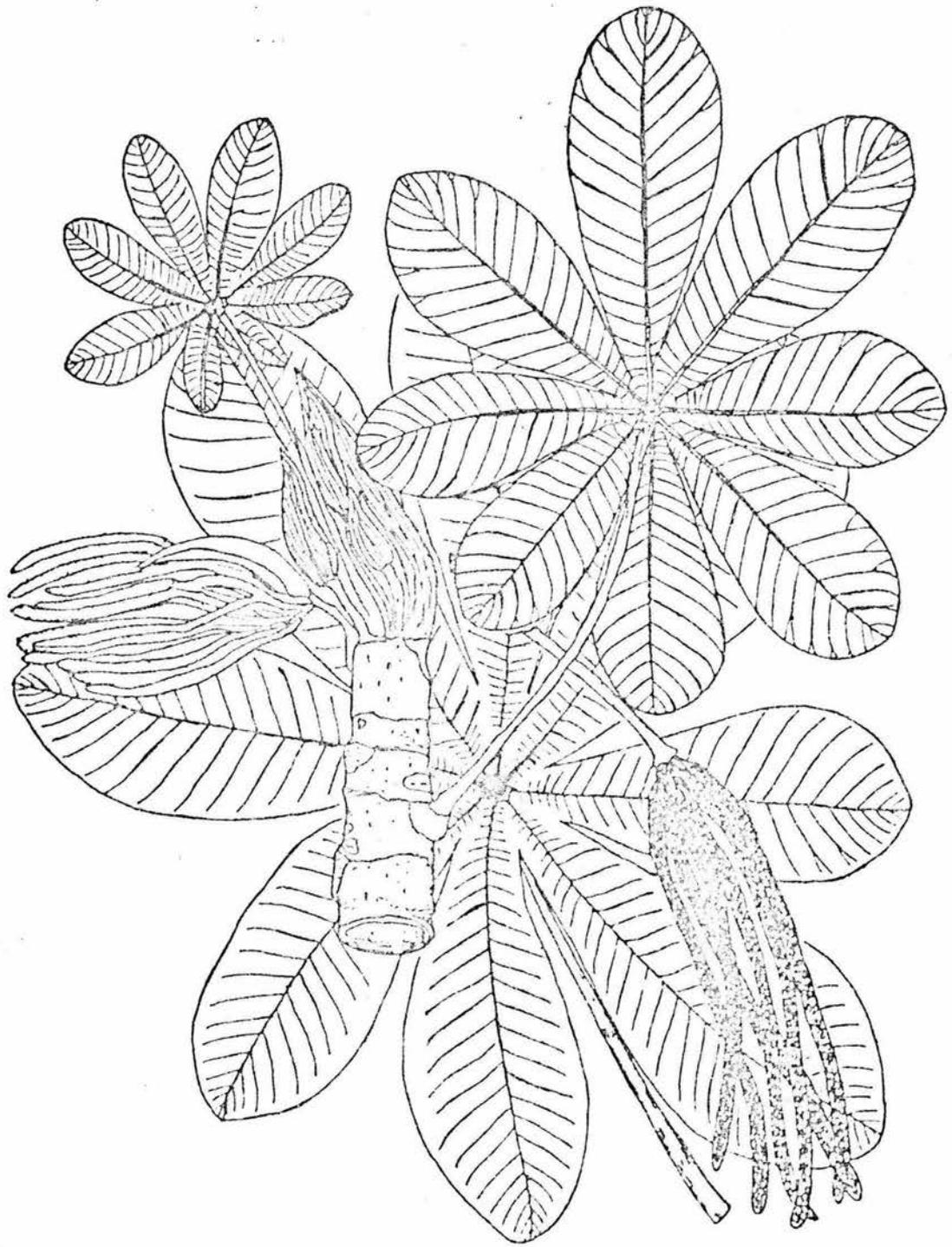
A LA FUENTE DE INSPIRACION PARA LOS QUE TRABAJAMOS  
EN EL LABORATORIO Y A PESAR DE ELLO GRAN AMIGA:

QFI. ROSA MARTHA PÉREZ GUTIÉRREZ.

AGRADEZCO EL APOYO DEL BIOLOGO José Luis Muñoz López,  
PUES SU AYUDA FUE FUNDAMENTAL EN LA REALIZACION DE ESTE  
TRABAJO.

## C O N T E N I D O

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
ANTECEDENTES.....	4
BREVE HISTORIA DE LA DIABETES.....	4
ANATOMIA E HISTOLOGIA DEL PANCREAS.....	8
INSULINA.....	10
MECANISMO DE ACCION DE LA INSULINA.....	16
DIABETES: DEFINICION Y TRANSTORNOS EN EL METABOLISMO...	19
TERAPEUTICA DE LA DIABETES.....	25
DESCRIPCION BOTANICA DE <i>CECROPIA OBTUSIFOLIA</i> .....	35
OBJETIVOS.....	39
DIAGRAMA DE INVESTIGACION.....	40
MATERIAL Y METODOS.....	41
RESULTADOS.....	48
BIOENSAYOS.....	48
ELUCIDACION DE LA ESTRUCTURA.....	60
DISCUSION.....	64
CONCLUSION.....	67
BIBLIOGRAFIA.....	69



## RESUMEN

La Diabetes mellitus es una enfermedad distribuida en todo el territorio nacional, aproximadamente el 2.4% de la población mexicana padece esta enfermedad y a menudo sus graves complicaciones incapacitan laboralmente a los pacientes, dañando de esta forma la economía y el bienestar nacional. Para el tratamiento de la Diabetes mellitus, en México se usan diferentes plantas medicinales, una de ellas es la *Cecropia obtusifolia* Bertol, de la cual se aisló un compuesto hipoglucemiante; esta actividad se comprobó mediante bioensayos en cada una de las fases de separación, se utilizó el análisis de varianza para el tratamiento estadístico de los resultados. El aislamiento del compuesto se hizo de acuerdo a sus propiedades de solubilidad y por técnicas cromatográficas, la elucidación de la estructura se determinó por análisis espectroscópicos.

## INTRODUCCION

La salud, elemento esencial para mejorar el nivel de vida de la población, lo es también para el desarrollo general del país. La importancia de la salud radica en que protege la mayor riqueza de los pueblos; la población humana, reconociendo como hecho fundamental que el hombre es el denominador común de todo, y que resulta imponderable el valor de la vida. La salud produce beneficios sociales extraordinarios en cuanto a los niveles de vida, la fuerza de trabajo, la utilización de los recursos naturales y la productividad; además permite el abatimiento de los gastos de atención médica curativa y disminuye las pérdidas por ausentismo.

En nuestro país, los principales daños a la salud son: Elevados índices de morbimortalidad por padecimientos transmisibles, especialmente en la niñez.

Persistencia de enfermedades vulnerables por medidas específicas.

Altos índices de padecimientos estomatológicos.

Incremento progresivo de enfermedades obstructivas crónicas de vías respiratorias; de la diabetes, de los padecimientos cardiovasculares y renales.

Dentro de los daños a la salud, la diabetes es una enfermedad que es un serio problema de salud pública. Durante 1975, la Diabetes mellitus en México ocupaba el décimo lugar como enfermedad causante de muerte, siendo el 2.4% de las defunciones totales de ese año las causadas por esa enfermedad.

En los últimos años, la incidencia de diabetes ha aumentado, así en 1980 murieron a causa de este mal 14,626 personas, ocupando el séptimo lugar como causa de mortalidad (2)

El tratamiento de esta enfermedad se ha restringido a

la dieta, uso de insulina o de hipoglucemiantes orales (biguanidas y sulfanilureas). En algunos casos el tratamiento con estos agentes es exitoso; sin embargo, el índice de mortalidad a causa de esta enfermedad sigue en aumento; es por ello que es necesario buscar alternativas para el tratamiento de la diabetes. Una de esas alternativas es la investigación científica dirigida a aislar nuevos fármacos a partir de la medicina herbolaria tradicional de nuestro país.

En el concierto mundial, México resulta interesante para el estudio de la flora medicinal, debido fundamentalmente a los siguientes factores: una medicina tradicional fundada en la herbolaria; persistencia en el uso de plantas medicinales por gran parte de la población actual y finalmente, la riqueza de información histórica, antropológica, etnobotánica y popular. Al mismo tiempo, México como uno más de los países en desarrollo, afronta la realidad de sus enormes problemas de salud pública. Los esfuerzos por llevar a la nación las formas occidentales para el tratamiento de la diabetes, lejos están de poder cubrir las necesidades de una población creciente.

En este marco de realidades económicas, sociales e históricas, la medicina tradicional mexicana y con ella su herbolaria adquieren una dimensión crucial en una probable implementación de nuevos fármacos a partir de flora medicinal en el tratamiento de la diabetes.

## ANTECEDENTES

### BREVE HISTORIA DE LA DIABETES.

En 1873, el arqueólogo y novelista alemán George Ebers, excavando entre las ruinas de la antigua ciudad de Tebas encontró un papiro, escrito hacia el año 1553 antes de Cristo. Este papiro contiene una síntesis de todos los conocimientos médicos del antiguo Egipto. El papiro habla de enfermos que adelgazan, que tienen hambre continua, que orinan muchísimo y se sienten atormentados por una sed enorme. Indudablemente, el sacerdote (cuyo nombre se desconoce) que escribió el papiro observó y supo describir la forma grave de la diabetes juvenil.

En el siglo V antes de Cristo, en la lejana India, Susruta observa una extraña enfermedad propia de ricos, de obesos, de personas que comen mucho dulce y mucho arroz cuya característica más peculiar es que la orina de los que la sufren tiene un sabor dulce. Los médicos chinos de la misma época aseguraban que la orina de algunos enfermos atrae las moscas y que hasta los perros acuden a lamerla con fruición. Para Hipócrates, padre de la medicina griega, la diabetes fue desconocida. En el año 70 de nuestra era, Arateo de Capadacia describe a la enfermedad como un sifón que vacía el organismo y la palabra diabetes significa precisamente sifón en lengua griega.

Al paso de los años, los síntomas de la diabetes son bien conocidos por muchos médicos: adelgazamiento, debilidad, hambre, sed y gran cantidad de orina. Los últimos tres, quizá por ser los más característicos, recibieron y conservan hasta nuestros días nombres de etimología griega: Polifagia (exceso de hambre), polidipsia (sed) y poliuria (orina a

bundante).

La medicina árabe alcanzó su esplendor en los siglos X y XI y Avicena o IBN-SINA vuelve a describir la diabetes, y añade, a los síntomas ya conocidos, el colapso de las funciones sexuales.

En el siglo XIV, Paracelso, médico suizo colocó orina de un enfermo en un recipiente, la coció a fuego lento y observó que, a medida que iba concentrándose, adquiría el aspecto de jarabe, para dejar, al terminar la evaporación, un polvo blanco. No tuvo la idea o el valor de catar este polvo residual, desconoció su sabor dulce y creyó que se trataba de sal. De un diabético obtuvo hasta cuatro onzas de esta supuesta sal en la orina de un solo día y afirmó que a ella se debían la sed y la poliuria.

En el año 1679, el Dr. Thomas Willis, al igual que hiciera un milenio atrás Susruta, humedece un dedo con la orina de un diabético, lo pasa a su boca y redescubre su sabor dulce. Willis tiene la oportunidad de probar la orina de muchos pacientes que presentan los síntomas de la diabetes. En unos la orina es muy dulce, en otros no lo es tanto y en algunos es totalmente insípida. Esta observación le permitió diferenciar dos clases de diabetes; la más frecuente es aquella en que la orina de los enfermos es dulce, enfermedad a la que cuadra bien el nombre de Diabetes mellitus -en latín, mellitus significa miel-, distinguiéndose así de la diabetes sin azúcar o diabetes insípida.

En la actualidad se conoce que la Diabetes mellitus o Diabetes sacarina, como también se llama, y la Diabetes in sípida son dos afecciones totalmente distintas, cuyos únicos síntomas comunes a ambas son la sed y la eliminación de grandes cantidades de orina.

Durante el siglo XIX se inicia la época de la medicina experimental, Claude Bernard, descubre que las féculas y azúcares de la alimentación se transforman en glucosa o azúcar de uva y que luego ésta, en el hígado, se concentra y se convierte en glucógeno, el cual, a su vez, puede pasar nuevamente a glucosa manteniéndose así de una manera constante la concentración de azúcar en la sangre. En aquel entonces empieza a interesar a algunos médicos la utilidad funcional del páncreas. En 1867, Langerhans descubre que dispersos en el seno de la masa pancreática, de aspecto muy similar a las glándulas salivales, hay unos islotes de células cuya estructura es distinta de las que producen fermentos digestivos y cuya función fue un verdadero enigma hasta 1889 cuando fue dado a conocer el sensacional descubrimiento de Von Mering y Minkowski. Estos fisiólogos de la Universidad de Estrasburgo, planearon un estudio sobre el papel del páncreas en la digestión de los alimentos, y con tal fin lograron extirpar completamente la glándula a un perro y que el animal resistiera y sobreviviera a la operación. Al siguiente día de la cirugía, el perro estaba muy postrado, tenía mucha sed y orinaba muchísimo. El experimento se efectuó en tiempo caluroso y las moscas afluían insesantemente a los sitios donde había ensuciado el animal. En los días sucesivos, los síntomas iniciales se acentúan; el animal adelgaza, bebe mucho y las moscas siguen invadiendo la habitación donde aquel se encuentra. Minkowski se fija en el detalle de las moscas e indica a su colaborador Von Mering que investigue qué puede haber en la orina que tanto las atrae. Von Mering descubre azúcar. El perro, sin páncreas, se ha vuelto diabético. Las experiencias se suceden con el mismo resultado: la extirpación del páncreas causan la diabetes de comienzo agudo, de curso grave, que termina con la muerte en el plazo de pocas semanas. Los experimentos de Von Mering y Minkowski se confirman en todos

los países del mundo. Se procede a extirpar el páncreas a ratas, gatos, monos y conejos, y el resultado siempre es el mismo. Un día, un cirujano observó a un paciente con cáncer de páncreas. Únicamente la extirpación del órgano enfermo puede salvarle de una muerte cierta y toma la decisión de operarle. Después de la operación, el enfermo se vuelve diabético. Lógicamente se llega a la conclusión de que el páncreas produce una sustancia indispensable para el aprovechamiento de los azúcares y féculas. Con fundamento también, se supuso que esta misteriosa sustancia se produce en los islotes de Langerhans por cuyo motivo se bautizó con el nombre de insulina mucho antes de ser descubierta (4, 25, 38). Este hallazgo condujo a Banting y Best, en el año de 1921, al aislamiento de la hormona insulina. Pocos descubrimientos en la historia de la medicina han tenido tan grandes repercusiones como los trabajos experimentales de estos dos investigadores canadienses. En 1955, Sanger dilucidó la estructura química de la insulina bovina. Nicol y Smith (1960) describieron la estructura química de la insulina humana. En 1963, grupos de investigadores norteamericanos, chinos y alemanes, simultánea e independientemente, pudieron lograr la síntesis química de la molécula de insulina (38).

## ANATOMIA E HISTOLOGIA DEL PANCREAS.

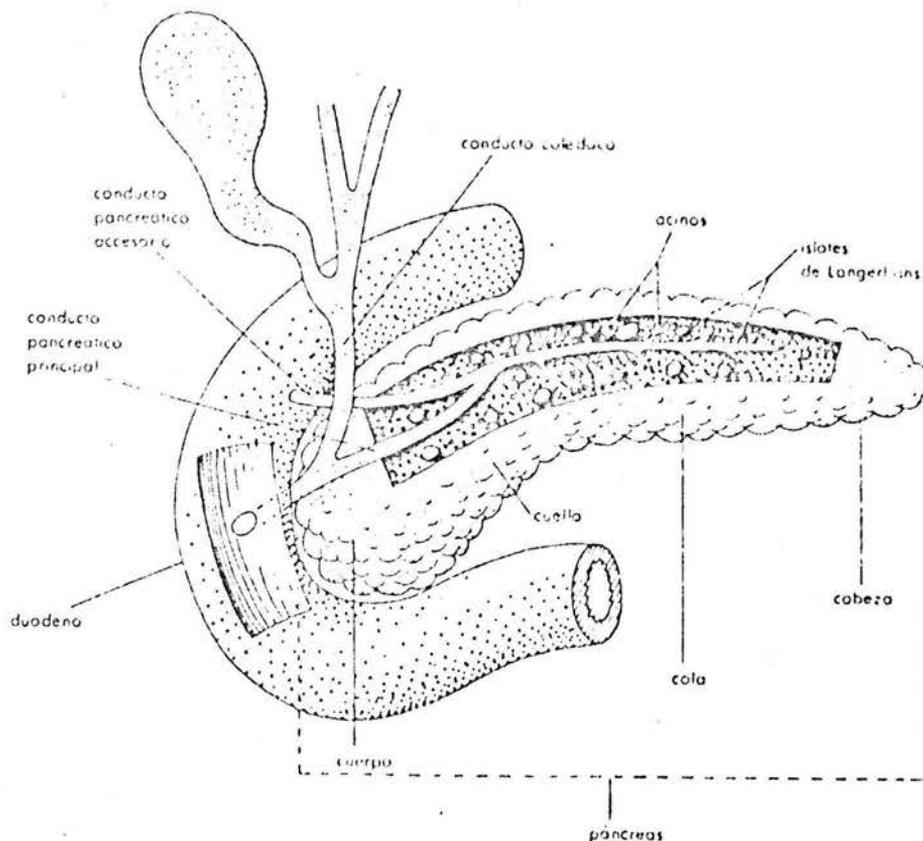
El páncreas es una glándula mixta:

-su secreción externa, el "jugo pancreático", es vertida en el duodeno por los conductos de Wirsung (principal) y de Santorini (accesorio).

-su secreción interna, la insulina, se vierte en la sangre.

El páncreas es solidario del duodeno, al que enmarca en su parte derecha; está íntimamente relacionado con el conducto colédoco. Su parte izquierda se afina hacia el bazo.

Es un órgano profundo, adosado a la pared posterior prevertebral, es retrogástrico y corresponde adelante, a las regiones supramesocólicas e inframesocólicas del abdomen. La línea media deja un tercio de la glándula a la derecha y dos tercios a la izquierda (20).



El páncreas es una glándula blanda, de color gris rojizo o amarillento, que está situada enfrente de las dos primeras vértebras lumbares. Su forma recuerda la de un martillo y se divide en cabeza, cuerpo y cola. La extremidad derecha, o cabeza, es la más voluminosa y llena el arco duodenal, al cual está firmemente adherida. La extremidad izquierda, libre, es la cola y alcanza el bazo; la parte situada entre las dos extremidades es el cuerpo. Su peso medio varía entre 60 y 90 gramos y mide unos 12.5 cm de largo por 5 cm de ancho.

Estructura. El páncreas es una glándula arracimada o acinosa compuesta de lobulillos. Cada lobulillo está formado por una de las ramificaciones del conducto principal, al cual termina en un acúmulo de alveolos. Los lobulillos están unidos entre sí por tejido conectivo laxo, formando así, los lóbulos, y éstos, unidos del mismo modo, forman la glándula. Los pequeños conductos de cada lobulillo se abren en el conducto principal que tiene cerca de tres milímetros de diámetro, va a lo largo del tejido glandular desde la cola hasta la cabeza y se denomina conducto pancreático o de Wirsung. El conducto pancreático y el colédoco se unen y entran oblicuamente en el duodeno; a veces se observa un conducto accesorio, o de Santorini, que se abre en el duodeno unos dos centímetros por arriba del conducto principal.

Islotes de Langerhans. Entre los alveolos se encuentran pequeños grupos de células que se denominan islotes de Langerhans, rodeados por una rica red capilar, y en ellos se elabora la secreción interna del páncreas: insulina y glucagón (24). Los islotes de Langerhans tienen una distribución desigual en el páncreas con una concentración mayor en la cola que en el cuerpo y en la cabeza de este órgano, y la masa total de tejido de los islotes abarca sólo del 1-2% del peso del páncreas (3).

En el páncreas humano se pueden identificar tres tipos diferentes de células en los islotes. Las células beta que comprenden del 60 al 70% de la población celular de los islotes, las células alfa que comprenden del 20 al 30% y las células D que comprenden aproximadamente del 2 al 8%.

Los diferentes tipos de células de los islotes pueden reconocerse fácilmente con la microscopía electrónica. En el humano, las células alfa contienen gránulos secretorios inequívocos que aparecen como estructuras homogéneas, densas y redondas. En contraste, las células beta humanas contienen gránulos secretorios que aparecen como barras translúcidas, estructuras redondas y modeladas irregularmente dentro de una célula beta. Con mayor aumento se pueden observar, líneas de periodicidad repetida dentro de los gránulos beta, lo cual indica la estructura translúcida del gránulo. La cantidad de retículo endoplásmico es mayor en la célula beta que en la alfa. Las células D contienen gránulos secretorios, inequívocos, borrosos. Por lo tanto, con la microscopía electrónica es posible identificar cada uno de estos tres tipos de células sobre la base de las características ultraestructurales de los gránulos secretorios (3).

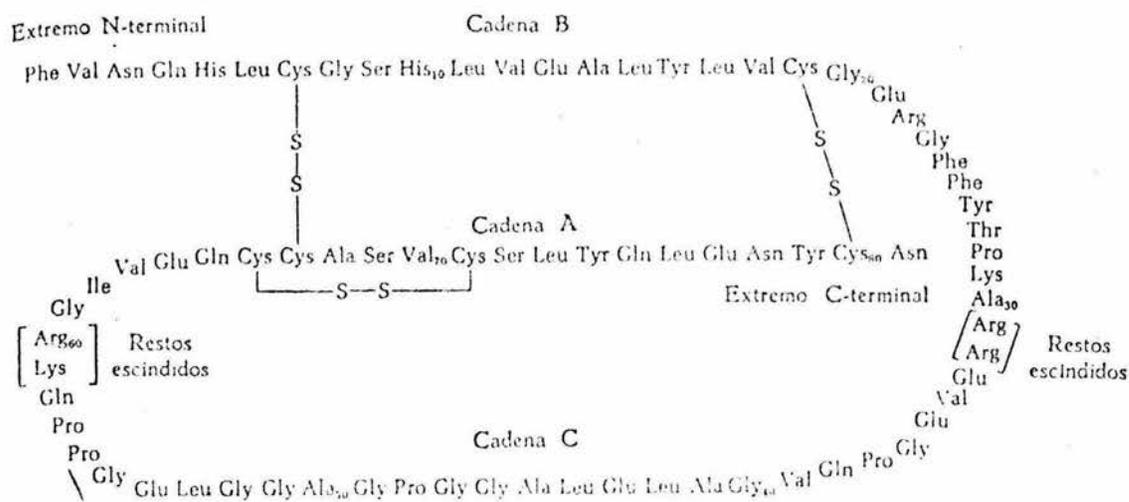
#### INSULINA.

La insulina es sintetizada por las células beta de los islotes de Langerhans y es almacenada en gránulos intracelulares como parte de una cadena molecular sencilla más grande llamada proinsulina (37).

La insulina, con peso molecular de unos 6000, está formada por dos cadenas de aminoácidos unidas por puentes disulfuro. La secuencia de aminoácidos de las dos cadenas (llamadas A, por ácida, y B, por básica) y la disposición de los

tres puentes disulfuro se dilucidaron en una brillante serie de investigaciones de Sanger y cols. durante los años 1945-1955 (31). Los esfuerzos de estos químicos culminaron en la síntesis completa de insulina bovina y humana (18).

Aunque se había supuesto que las cadenas A y B se sintetizaban por separado y luego se unían en las células beta de los islotes del páncreas, Steiner y cols. (36), demostraron que la célula beta forma insulina con un precursor de cadena única llamado proinsulina. Al convertirse la proinsulina humana en insulina, cuatro aminoácidos básicos (arginina 31, arginina 32, lisina 62 y arginina 63) y el péptido C o conector restante (residuos 33 a 63) son separados. La molécula de insulina resultante tiene dos cadenas, la A con glicina en el residuo amino terminal y la B con fenilalanina en el residuo amino terminal (14).



Una molécula aún más grande, llamada preproinsulina, se ha identificado como precursor de la proinsulina. La preproinsulina, se extiende desde la región N-terminal de la cadena B por lo menos por 23 aminoácidos, muchos de los cuales son hidrófobos. Se cree que la preproinsulina se descompone rápidamente (a los pocos minutos de formada) en proinsulina por efecto de las proteasas microsómicas. La extensión peptídica de la preproinsulina se parece en tamaño, composición parcial de aminoácidos y localización del extremo amino, a las secuencias adicionales observadas "in vitro" en los productos de la traducción de los RNA mensajeros correspondientes en diversas hormonas, y de proteínas no hormonales, como las cadenas ligeras de inmunoglobulina (5).

Hodgkin y Marcola (16) han determinado la estructura tridimensional de la insulina por análisis con rayos X de cristales aislados. La insulina puede existir como monómero, dímero o hexámero, compuesto por tres de estos dímeros. Dos moléculas de  $Zn^{+2}$  se coordinan en el hexámero, que es presumiblemente la forma almacenada en los gránulos de las células beta. Se cree que la forma biológicamente activa de la hormona es el monómero. El análisis por rayos X también ha demostrado que las dos cadenas tienen una distribución compacta, con la cadena A por encima de la porción helicoidal central de la cadena B. Desde cada extremo de esta región helicoidal las porciones terminales de la cadena B se extiende como brazos, y la cadena A queda encerrada entre ellas.

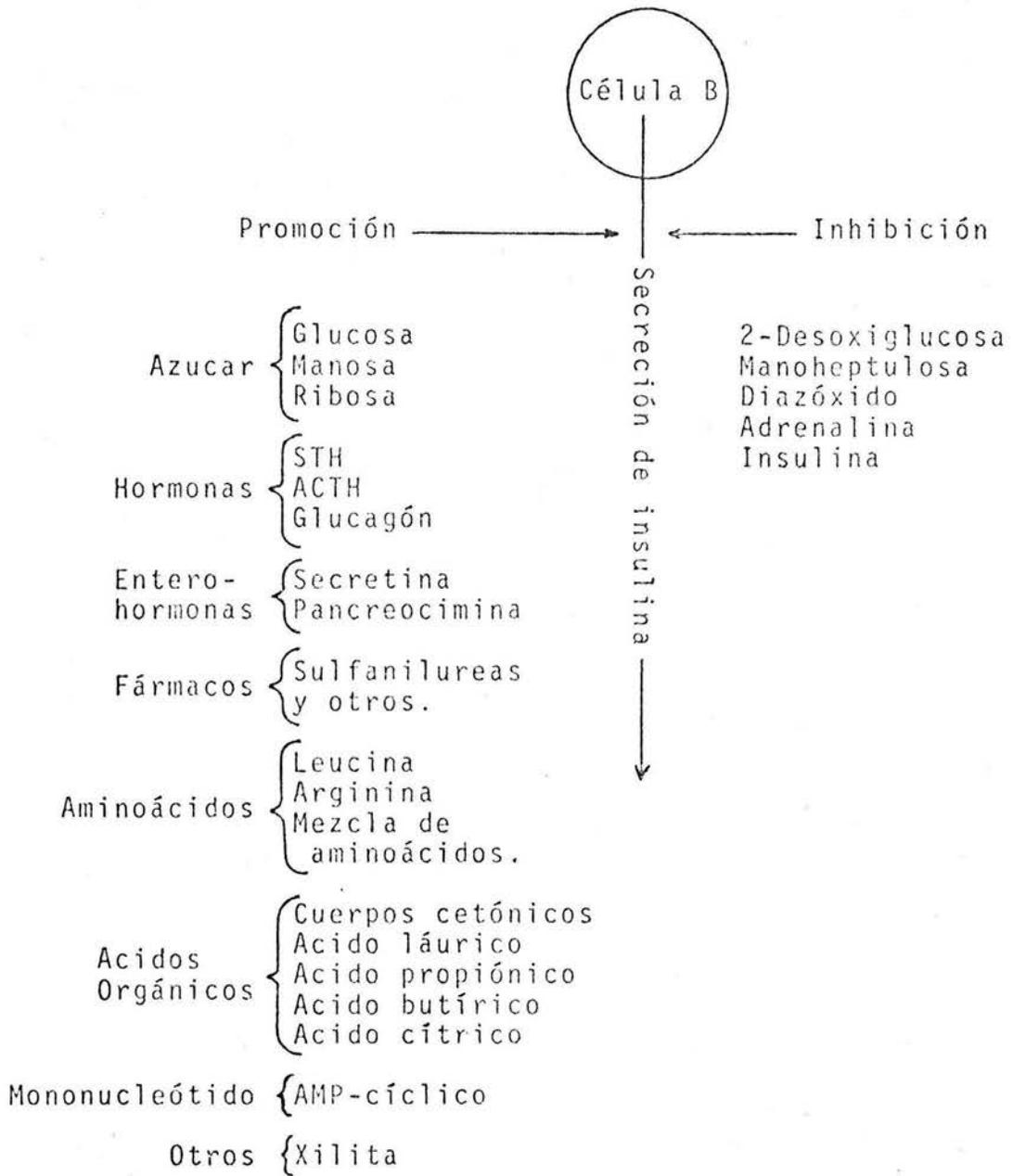
Muchas especies presentan variaciones, algunas de las cuales tienen significación clínica. Por ejemplo, los sitios principales de diferencia química entre la insulina porcina, ovina, equina y cetácea están en las posiciones 8,9 y 10 de la cadena A. La hormona porcina es muy semejante a la del hombre y solo difiere de ella por la sustitución de un resi-

duo de alanina en el carboxi terminal de la cadena B. Con el uso de la insulina porcina como material inicial, la insulina humana puede sintetizarse con relativa facilidad. La producción de insulina humana por clonificación de ADN sintetizado químicamente en bacterias también se ha publicado (11,13). La reciente creación de métodos químicos para sintetizar DNA, asociada con la tecnología de recombinación de DNA, ha permitido que las células bacterianas (*Escherichia coli*) sintetizen *in vivo* proinsulina de rata o las cadenas A y B de la insulina humana. El Plan de síntesis implica ya sea la transcripción inversa del RNA mensajero que codifica la proinsulina, para así obtener el DNAc (DNA "de copia") de ésta; o bien la síntesis química de los fragmentos de DNA más pequeños que codifican las cadenas A y B de la insulina humana. A continuación, los genes sintéticos se fusionan con un gen que normalmente se expresa en la *E coli* huésped (p. ej., penicilinas,  $\beta$ -galactosidasa) para que la transcripción y traducción sean eficientes, a fin de obtener una proteína precursora estable y (en el caso de una proteína periplásmica como la penicilinas) para facilitar su salida de la célula. Los vectores usados para introducir el DNA extraño y propio en la bacteria son bacteriófagos o plasmides. La célula que contiene la plasmide transcribirá su propio gen y el que se le introdujo, con lo cual producirá el polipéptido deseado. El hecho de que actualmente las secuencias de DNA eucariótico puedan clonarse y expresarse en células procariontas (bacterias) puede tener su aplicación más inmediata en el uso de la síntesis bacteriana para producir insulina humana. De este modo, dicha tecnología puede proporcionar cantidades ilimitadas de insulina y acabar por sustituir a los procedimientos de producción actuales, que entrañan su extracción del páncreas porcino o bovino (11).

Secreción de insulina. Dentro de la célula, la preproinsulina se sintetiza y se descompone rápidamente en proinsulina en el polisoma del retículo endoplásmico rugoso. De ahí, la proinsulina es transportada por un fenómeno activo al aparato de Golgi, donde se incorpora en microvesículas de superficie lisa para formar gránulos secretorios o de almacenamiento. Desde que llega al complejo de Golgi y ya incorporada a los gránulos, las proteasas de la membrana la descomponen en cantidades equimolares de insulina y péptido C. Esta y el cinc se acumulan en el núcleo central del gránulo secretorio en formación, que progresivamente se hace más electrodenso; el péptido C se sitúa en el espacio periférico claro.

Para que los gránulos secretorios maduros liberen su contenido, es preciso que emigren progresivamente hasta la membrana celular, donde expulsan la insulina y el péptido C. Dentro del citosol de las células beta, los microtúbulos - estructuras de 24 nm de diámetro formadas por subunidades dimeras cuyo peso molecular es de 120 000, llamadas tubulinas- sirven para guiar el desplazamiento de gránulo hasta la membrana plasmática. Ahí, una serie de microfilamentos - estructuras de 4 a 8 nm que se cree están compuestos por la proteína contráctil actina- forman una red cerca de dicha membrana y rodean a los gránulos. Se cree que la "vía final común" de la secreción de las células beta incluye la entrada de calcio en la célula, lo cual produce contracción de los microfilamentos. En consecuencia, los gránulos salen a la superficie celular, donde su membrana se fusiona con la plasmática y su contenido es expulsado hacia el espacio extracelular. Este fenómeno de fusión de membranas se ha llamado emiocitosis o exocitosis. Estímulos distintos, tales como glucosa, leusina o sulfanilureas, provocan la secreción de insulina por este mecanismo (22). En el cuadro # 1

se indican algunas de las múltiples sustancias capaces de estimular aisladamente la secreción de insulina.



Cuadro # 1

Promoción e inhibición de la secreción de insulina

Tiene gran importancia práctica el hecho de que tanto las comidas proteínicas como las mezclas de aminoácidos provoquen la secreción de insulina. Asimismo, es muy significativo el hecho de que las hormonas gastrointestinales, cuya liberación es activada en el proceso de digestión, originen, por si mismas, una acción potenciadora de la secreción de in su li na, éste hallazgo debe ser la base de la observación, di fi ci l me n te e x p l i c a b l e, de que la administración bucal de glu co s a provoca una mayor elevación de los niveles de insulina en el suero que la inyección intravenosa de azúcar, no obstante la menor hiperglucemia provocada en el primer caso (22)

También son interesantes las sustancias que inhiben la secreción de insulina (cuadro # 1). Junto a las sustancias de uso fundamental en trabajos experimentales (p.ej. manoheptulosa), han adquirido significación extraordinaria ciertos fármacos como el derivado tiacídico denominado diazóxido. La acción inhibitoria de la secreción insulínica del diazóxido es tal, que permite su uso en el tratamiento de insulinomas. Sin embargo, el inhibidor de la secreción de insulina con má x i m a significación fisiológica es verosímilmente la propia insulina. De este modo, el nivel sanguíneo de insulina actua ría en este ciclo biológico como detector y regulador.

#### MECANISMO DE ACCION DE LA INSULINA.

a). Transporte de glucosa. La insulina promueve la utilización de glucosa por muchos tejidos, especialmente los músculos y el tejido adiposo (21,22,28), aunque hay otros co mo cerebro, retina, epitelio germinal de testículo y ovario, que no requieren la hormona para metabolizar glucosa (21,28). El papel de la insulina en el hígado no ha sido definitivamente aclarado pero es muy probable que también permita al a

provechamiento de la glucosa por un efecto de la glucosinasa. La influencia de la insulina en el metabolismo de los carbohidratos parece depender exclusivamente de su propiedad de facilitar el transporte de glucosa del espacio extracelular al interior de la célula. Un efecto semejante se observa en la anoxia o inhibiendo la síntesis de ATP, lo que sugiere que normalmente existe una barrera para el paso de la glucosa al interior de la célula, y que esta barrera requiere el consumo de energía; la insulina actuaría interfiriendo con la utilización de esta energía, con el consecuente paso de la glucosa al interior de la célula.

A través de un acelerado transporte de glucosa se mejoran secundariamente otros procesos tales como la degradación del azúcar y la síntesis de glucógeno. Verosímilmente la insulina actúa también de modo decisivo en la síntesis de glucógeno (eventualmente induciendo la enzima glucogenosintetasa) (22).

b). Transporte de aminoácidos. Con independencia de su influencia sobre el transporte de glucosa, la insulina acelera el paso de aminoácidos a través de las membranas celulares. De acuerdo con los hallazgos actuales, y en contraste con lo que sucede en el caso de los azúcares, los aminoácidos son transportados de modo activo. Que esto es así lo demuestra el que, en condiciones experimentales, la concentración intracelular de aminoácidos llega a ser 2-3 veces superior a la del medio de incubación. Ciertamente este transporte tiene lugar incluso en medio de incubación libres de glucosa (3,14,15).

c). Transporte de potasio. En el caso del potasio existe así mismo un tipo de transporte contra corriente. Sin embargo, no está definitivamente aclarado si la elevada capta-

ción celular de potasio bajo el efecto de la insulina refleja un efecto primario de ésta sobre el sistema de transporte o una acción secundaria de la hormona sobre una anormal situación metabólica. En cualquier caso esta acción de la insulina reviste especial significación terapéutica. Así, en el coma diabético, los tejidos están gravemente empobrecidos de potasio, y en esta situación, la administración de insulina determina un mayor flujo de potasio (y de glucosa) en distintos tejidos. Esta aumentada derivación intracelular del potasio puede conducir a una situación de hipocalcemia que debe ser vigilada en el curso de la terapéutica (14,15,22).

d). Síntesis de proteínas. La insulina induce en el hígado la síntesis de las enzimas clave de la glucólisis. Además, mediante la acción directa de la hormona sobre los ribosomas se incrementa notablemente la síntesis proteínica. Esta potenciación de la síntesis de proteínas es independiente de la elevada concentración de aminoácidos en los núcleos celulares que provoca la insulina, ya que el fenómeno es igualmente demostrable en los ribosomas aislados (22).

e). Lipogénesis. La síntesis de ácidos grasos en el hígado es estimulada por un aumento de la insulina plasmática; ello refleja varios efectos de esta hormona: 1). el aumento de flujo de sustrato por la vía glucolítica hacia el ciclo de Krebs aumenta la disponibilidad de citrato e isocitrato, lo cual estimula las vías liposintéticas, en particular la actividad de la carboxilasa de acetil CoA. 2). La reducción de los ácidos grasos libres anula su influencia inhibidora sobre esta enzima. 3). La disponibilidad de NADPH, que es un donador de hidrógeno necesario en muchos pasos de la síntesis de ácidos grasos, es incrementada por la insulina a medida que aumenta la utilización de glucosa en la vía de las pentosas. 4). La insulina puede ejercer un efecto estimula-

dor directo sobre la carboxilasa de acetyl CoA. La capacidad global de esta hormona para estimular la síntesis hepática de ácidos grasos destaca por el hecho de que en el hombre la lipogénesis ocurre principalmente en el hígado en vez del tejido adiposo. Los ácidos grasos sintetizados por este órgano son transportados después (como lipoproteínas de densidad muy baja) al tejido adiposo, donde se almacenan como triglicéridos.

Debido a su efecto estimulador de la lipasa de lipoproteínas, la insulina acelera la extracción por el tejido adiposo de los triglicéridos circulantes provenientes de fuentes exógenas o endógenas. Además, es sumamente eficaz para inhibir una lipasa sensible a hormonas dentro del adipocito, la cual cataliza la hidrólisis de los triglicéridos almacenados y la liberación de los ácidos grasos libres. Este efecto antilipolítico de la hormona tiene lugar a concentraciones menores que las necesarias para afectar el transporte de glucosa. Es más, una gran proporción de este azúcar que el adipocito capta por efecto de la insulina se utiliza para formar  $\alpha$ -glicerofosfato, compuesto necesario para esterificar los ácidos grasos y elaborar triglicéridos. Cantidades menores de dicho glúcido se emplean en el tejido adiposo para la síntesis *in situ* de ácidos grasos. El resultado neto de los efectos antilipolítico, estimulador de la síntesis de grasa y glicerógeno de la insulina es aumento de la grasa total almacenada (22).

#### DIABETES: DEFINICION Y TRANSTORNOS EN EL METABOLISMO.

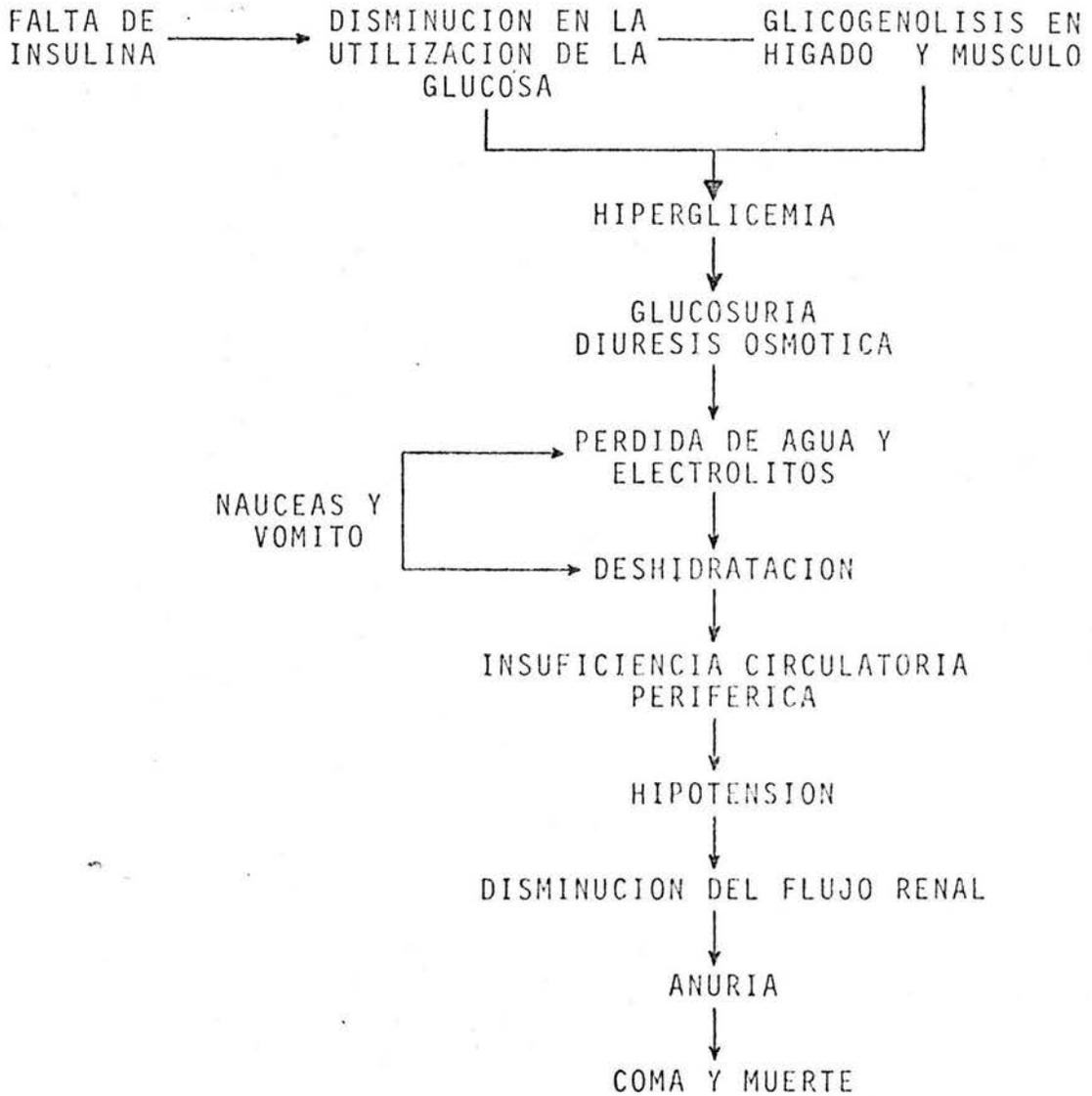
La diabetes es una enfermedad crónica, hereditaria, caracterizada por aumento de la glucosa de la sangre y la excreción de la glucosa por la orina; depende de la deficiente formación o de la disminuida eficacia de la insulina secreta

da por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas, y está funcionalmente relacionada con estados patológicos que se originan en el hígado y en otras glándulas endócrinas, especialmente la hipófisis, pero también las suprarrenales y la tiroides (17,35).

La falta de insulina disminuye la utilización de glucosa en los tejidos, especialmente muscular y adiposo, lo que contribuye a la hiperglicemia; otros dos factores que aportan más glucosa a la sangre son la glucogenolisis hepática y muscular, y posteriormente la gluconeogénesis en el hígado. Cuando la hiperglucemia sobrepasa el umbral renal aparece glucosuria y se establece una diuresis osmótica, lo que explica la poliuria tan común de la diabetes. Si esta poliuria es intensa y se acompaña de falta de ingestión de agua (en sujetos en coma diabético) pronto lleva a la deshidratación y hemoconcentración, y si la hipovolemia es grave puede causar insuficiencia circulatoria periférica o choque. La hipotensión que acompaña a la hipovolemia resulta en disminución de la perfusión renal sanguínea que si se mantiene un tiempo relativamente breve es causa de necrosis tubular aguda, oliguria o anuria y muerte. Además, las condiciones de anaerobiosis generalizada determinan un aumento en la concentración sanguínea de ácido láctico, que junto con la insuficiencia renal da origen a acidosis (17).

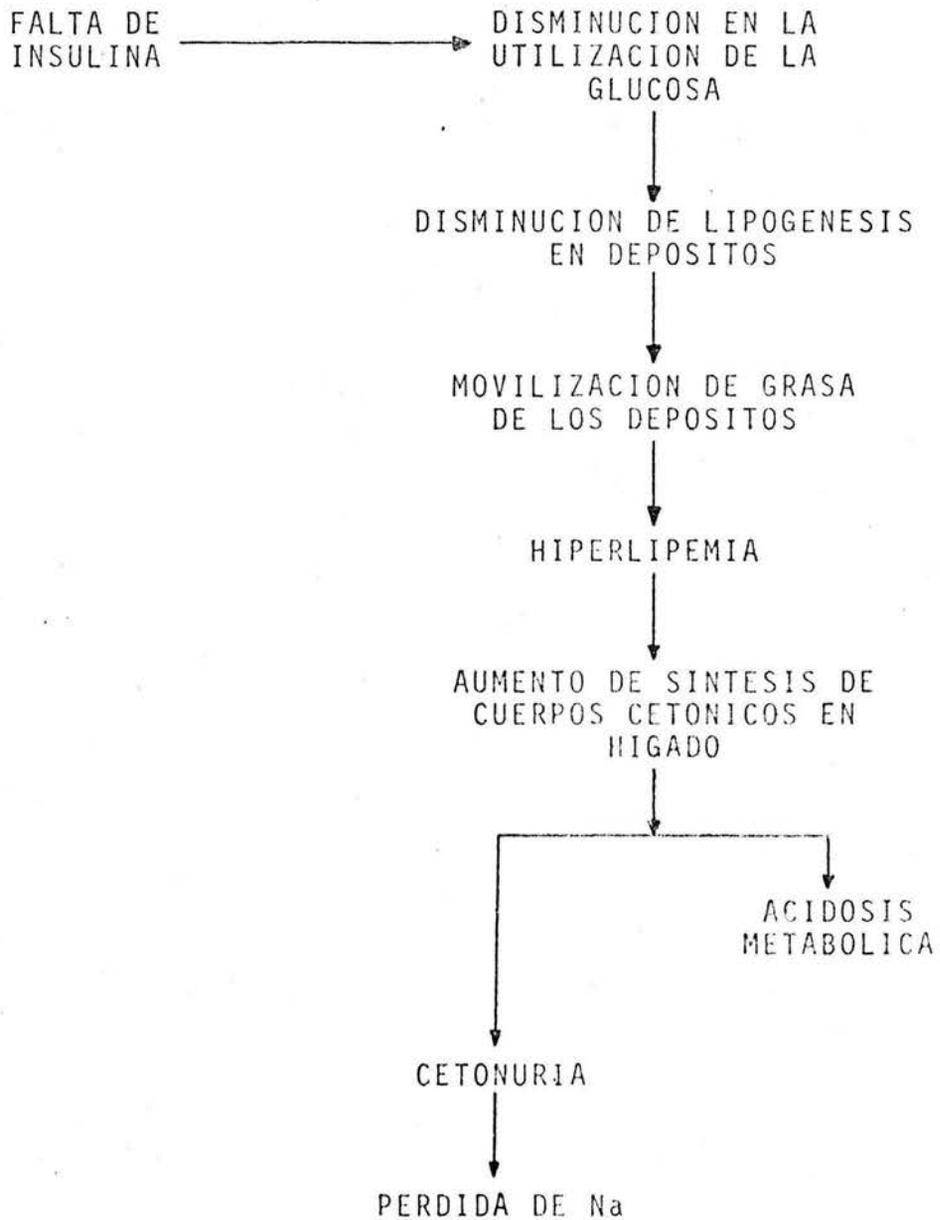
Metabolismo intermedio de las grasas. Se encuentra profundamente afectado en la diabetes: la grasa de los depósitos se moviliza y los ácidos grasos libres pasan a la circulación en forma de lipoproteínas de baja densidad. El hígado se carga de grasa, que solo puede oxidar hasta el nivel de a cetil CoA; los fragmentos de dos carbonos se agregan formando ácidos diacéticos y  $\beta$ -hidroxibutírico y de esta manera salen a la circulación por las venas hepáticas. Estos cuerpos cetónicos tienen dos efectos principales: en primer lugar, producen acidosis metabólica y su signo característico, la respiración de Kussmaul; en segundo lugar, cuando la concentración sanguínea de los cuerpos cetónicos sobrepasa el umbral renal de eliminación aparecen en la orina, donde pueden identificarse fácilmente. Sin embargo, al eliminarse por el riñón acarrear bases fijas con ellos, lo que contribuye todavía más a la pérdida de agua y electrólitos y agrava la hipovolemia mencionada anteriormente. Lo antes expuesto, se esquematiza en el cuadro # 3.

Metabolismo proteínico. La falta de insulina y la resul tante incapacidad para utilizar glucosa resulta en disminución de la biosíntesis de proteínas, con el consecuente predominio del catabolismo, especialmente en tejidos sensibles a la acción de la insulina, como los músculos. Los productos de la proteólisis muscular pasan a la sangre y llegan al hígado donde son desaminados oxidativamente y los residuos de carbono contribuyen a la gluconeogénesis o a la formación de cuerpos cetónicos; el  $\text{NH}_2$  aparece en la orina en forma de urea, junto con  $\text{K}^+$  y otros iones intracelulares, como se indica en el cuadro # 4 (17,21,22,28).



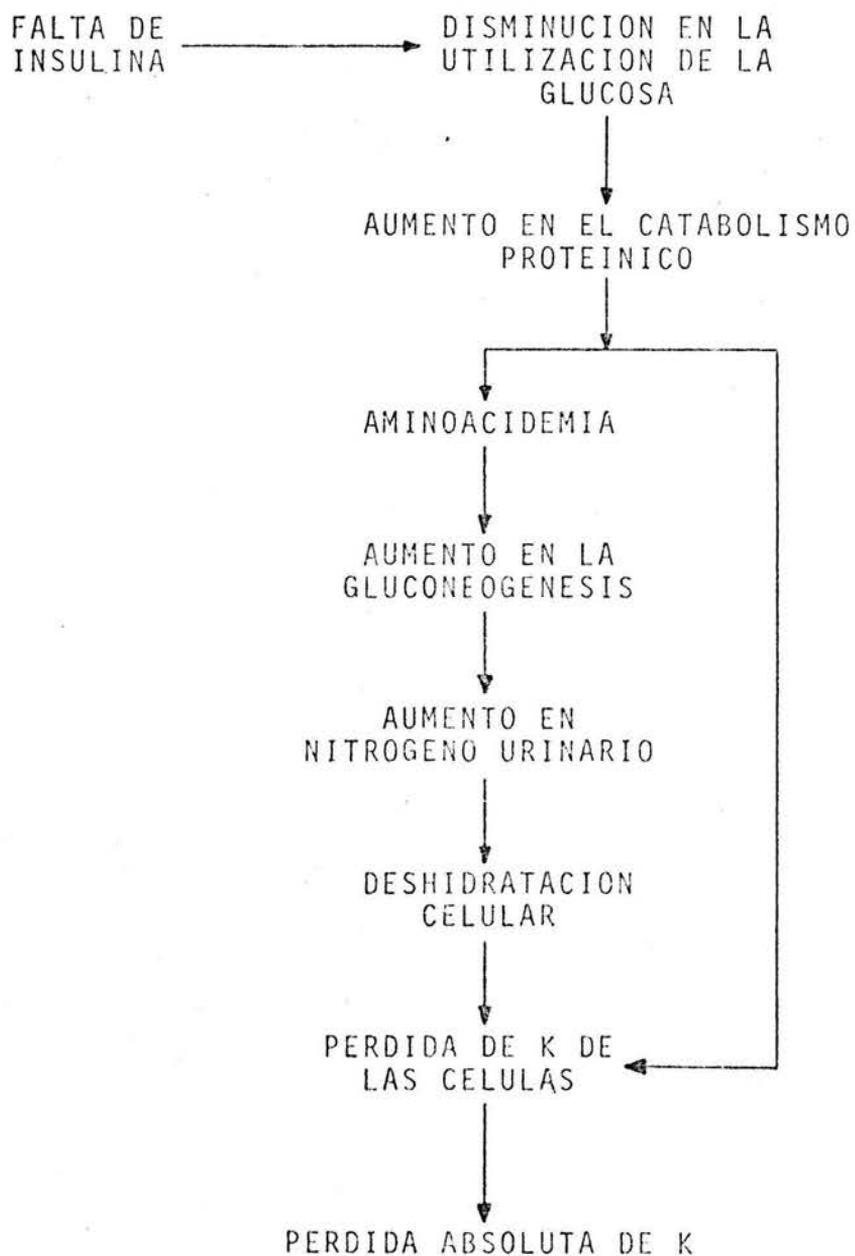
Cuadro # 2

Transtornos en el metabolismo de los carbohidratos por deficiencias de insulina.



Cuadro # 3

Transtornos en el metabolismo de los lípidos por deficiencia de insulina.



Cuadro # 4

Transtornos en el metabolismo de las proteínas por deficiencias de insulina.

## TERAPEUTICA DE LA DIABETES.

Puede subdividirse en dieta, antidiabéticos bucales e insulina. Ninguno de estos tres métodos terapéuticos se excluye mutuamente. La dieta es la piedra clave de todas las demás formas de terapéutica de la diabetes. Las combinaciones entre insulina y antidiabéticos bucales rara vez son necesarias o de utilidad. Una terapéutica de la diabetes queda incompleta si no se complementa con la regulación de la actividad corporal que convenga mantener al paciente individual. Tiene caracter decisivo para el éxito de la terapéutica el inteligente consejo y profunda instrucción que se de al paciente desde el mismo comienzo de la enfermedad. Esta instrucción no solo consiste en cuestiones de dieta y de administración de medicamentos, sino que debería incluir la adecuada información y esclarecimiento de la naturaleza, causas complicaciones y tratamiento de la diabetes. Es así mismo de importancia capital que el paciente aprenda a realizar por si mismo el control de la glucosuria y la acetonuria (22).

La diabetes puede clasificarse según el particular tipo de terapéutica. Sin duda, la clasificación más simple y didáctica es la clásica distinción entre dos tipos de diabetes: la de tipo juvenil y diabetes del adulto. La diabetes juvenil es una auténtica diabetes debida a la falta de insulina. La terapéutica para toda la vida en estos pacientes consiste en la sustitución de su deficiente insulina endógena. En la diabetes del adulto existe una menor y más lenta respuesta de las células beta de los islotes a los estímulos de su secreción, al mismo tiempo que una hiposensibilidad de los organos efectores a la acción de la insulina. Los pacientes con este tipo de diabetes pueden ser controlados con hipoglucemiantes bucales (4).

## I. Insulinas.

La dosis y tipo de insulinas se debe determinar para cada paciente por pruebas clínicas. En un enfermo dado, la cantidad requerida dependerá de la cantidad de insulina endógena disponible, de la dieta y del ejercicio (que tiende a disminuir las necesidades de insulina). La atención del paciente requiere, por lo tanto, del control coordinado de la dieta, el ejercicio, la dosificación y distribución de la insulina. En los individuos diabéticos, así como en los no diabéticos, la glucosa sanguínea se eleva después de cada comida. El grado y duración del aumento es proporcional a la cantidad de carbohidratos ingeridos y la duración de la máxima elevación depende también de la velocidad de absorción. El uso de inyecciones intermitentes de la insulina de corta acción (antes de las comidas) o la aplicación de una o dos inyecciones de una preparación de acción prolongada (por ejemplo, de la regular NPH) sirven para reducir el incremento de la glucemia después de las comidas. Cuando se administran grandes dosis de insulina de acción prolongada y los niveles de insulina circulante están continuamente elevados, es útil hacer que el paciente ingiera pequeñas cantidades de alimento a intervalos frecuentes. Sin embargo, si el paciente es incapaz de ajustarse a un patrón establecido de actividad y comidas, la terapéutica con insulina se debe adaptar a sus hábitos para impedir la hipo o la hiperglucemia excesiva.

### Preparaciones existentes:

Los tipos de insulina corrientemente usados se encuentran en la lista del cuadro # 5.

Todas las preparaciones de insulina se encuentran en varias concentraciones. La insulina U-40 contiene 40 unidades por ml, la insulina U-80 contiene 80 unidades/ml.

TIPO DE INSULINA	PRESENTACION	HORAS DESPUES DE LA INYECCION S.C.		
		COMIENZO DE LOS EFECTOS	EFECTO MAXIMO	DURACION DEL EFECTO
Corriente (cristalina)	Solución	1/4	4-6	6-8
Semilenta	Amorfa	1/2	4-6	12-16
Globina	Solución	2-3	6-10	12-18
NPH	Cristalina	3	8-12	18-24
Lenta	30% de amorfa y 70% cristalina	3	8-12	18-28
PZI	Amorfa	3-4	14-20	24-36
Ultralenta	Cristalina	3-4	16-18	30-36

Cuadro # 5

Preparados de insulina.

La unidad internacional de insulina se define como la cantidad requerida para abatir la glucemia de un conejo de dos kilogramos, en ayunas, de 120 a 45 mg/100 ml. El material internacional de referencia tiene una actividad de 22 unidades/mg.

a). Insulina zinc cristalina (insulina regular):

Esta preparación se usa para un efecto breve, de inicio rápido, a menudo en combinación con preparaciones de acción prolongada. Es la única preparación que se puede aplicar intravenosamente y así se usa en el tratamiento de la acidosis diabética. También se emplea con fines de exploración y en el tratamiento del coma insulínico para trastornos psiquiátricos. Es una solución límpida con un pH aproximado de 3.0 que contiene 0.02-0.04 mg de zinc por cada 100 unidades.

b). Insulina globina:

Es una solución incolora con un pH de 3.7 que contiene 3.8 mg de globina eritrocitaria y 0.3 mg de zinc por cada 100 unidades de insulina cristalina. Cuando se inyecta, la solución es neutralizada en los tejidos y el complejo insulina-proteína precipita. La acción de la insulina en esta forma no es suficientemente prolongada para ser útil generalmente por administración del requerimiento para 24 horas.

c). Protamina zinc-insulina (PZI):

Es una preparación en la cual la insulina cristalina está combinada con un exceso de protamina en amortiguador de fosfatos a pH 7.2 para formar un fino precipitado que contiene 1.25 mg de protamina por cada 100 unidades de insulina. La preparación se estabiliza por la adición de 0.2 mg de zinc por cada 100 unidades. La insulina es liberada de la

proteína por las enzimas proteolíticas, dando por resultado un efecto sostenido prolongadamente de 24 a 36 horas.

d). Isofano (Neutra-Protamina-Hagedorn, NPH) insulina:

Es una suspensión de cristales de protamina zinc insulina (0.4 mg de protamina por cada 100 unidades de insulina) en amortiguador neutro de fosfatos (pH 7.2) que contiene justamente la suficiente protamina para combinarse con la insulina. Su acción es intermedia entre la de PZI y la correspondiente a la insulina regular.

e). Suspensiones de insulina zinc:

Estas preparaciones se hacen sustituyendo el amortiguador de fosfato por el de acetato, volviendo insoluble a la insulina a pH 7.2. Este proceso puede dar por resultado la formación de pequeñas partículas amorfas o de cristales más grandes. La preparación amorfa se llama solución pronta de insulina zinc USP (semilenta) y tiene una acción semejante a la que ejerce la insulina regular, de 6 a 8 horas (23).

Acciones secundarias de los preparados de insulina.

Tras la aplicación de insulina pueden surgir fundamentalmente las siguientes acciones secundarias indeseables:

1. Anomalías de refracción transitoria.
2. Edemas insulínicos.
3. Alergia frente a la molécula de insulina o sustancias de retardo.
4. Alteraciones cutáneas locales en el sentido de lipodistrofia o de formación de lipomas.

5. Fuerte resistencia insulínica por formación de anticuerpos antiinsulínicos.

6. Hipoglucemia. (9).

## II. Hipoglucemiantes bucales.

Una extensa variedad de compuestos son capaces de causar una reducción de la glucemia. Estos incluyen a las sulfonamidas, los salicilatos y diversas sustancias vegetales. Aunque la insulina es un agente práctico y satisfactorio para el tratamiento de la diabetes, tiene la desventaja de requerir de la administración parenteral una o más veces al día.

Los primeros intentos para tratar a los pacientes con derivados de la guanidina (sintalina) e hipoglicina (un derivado de una planta antillana). Fueron un fracaso debido a la toxicidad de estos agentes. En la actualidad, dos clases de compuestos, las sulfanilureas y las biguanidas, han dado preparaciones clínicamente útiles (23).

### a). Sulfanilureas:

Muchos compuestos derivados de la sulfanilurea han sido estudiados. Algunos miembros de esta clase, en uso corriente, se muestran en el cuadro # 6.

### Efectos farmacológicos.

El efecto hipoglucemiante de las sulfanilureas se cree debido a su propiedad para causar la liberación de la insulina del páncreas. La administración de uno de estos agentes se acompaña de un incremento en el nivel de insulina plasmática y de una disminución en el contenido insulínico del páncreas. A las dosificaciones usualmente empleadas, estos compuestos no producen hipoglucemia en ausencia del páncreas,

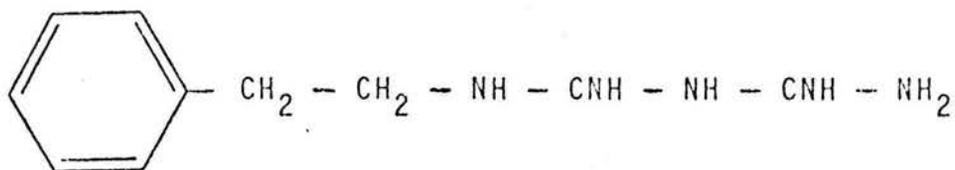
dosis más grandes parecen tener un efecto directo sobre la producción hepática de glucosa.

Reacciones adversas de las sulfanilureas.

1. Pirosis, diarrea, náuseas, dolor abdominal.
2. Confusión, vértigo, ataxia.
3. Granulocitopenia.
4. Ictericia obstructiva.
5. Hipoglucemia. (9).

b). Biguanidas.

Aunque la guanidina y muchos de sus derivados pueden producir hipoglucemia, solo la fenetibiguanida (fenformin) está en uso actualmente. Es un polvo blanco cristalino con la estructura que se muestra enseguida:



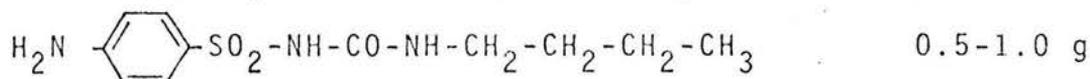
Su efecto principal es un incremento en la anaerobiosis. Es de interés que el compuesto no cause una reducción de la glucosa sanguínea en sujetos humanos normales. Se ha demostrado que potencia los efectos de la insulina *in vivo* e *in vitro* y que puede antagonizar los factores antiinsulínicos. También se ha demostrado que disminuyen la absorción de glucosa en el intestino, y aumenta la captación de glucosa en los tejidos periféricos.

Cuadro # 6

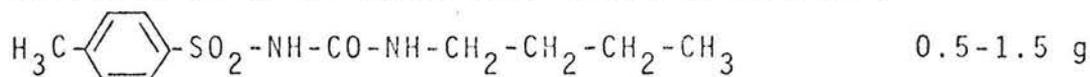
Sulfanilureas usadas en el tratamiento de la diabetes.

Descendientes de sulfamidas Dosis de mantenimiento medias

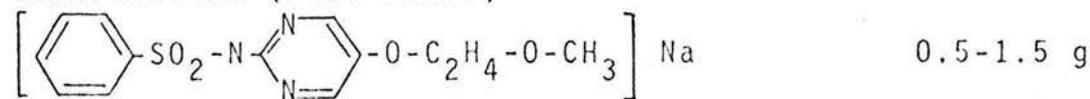
Carbutamida (sin. Invenol, Nadisan)



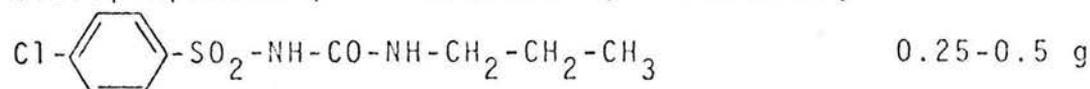
Tolbutamida (sin. Rastinon, Artosin, Orinase)



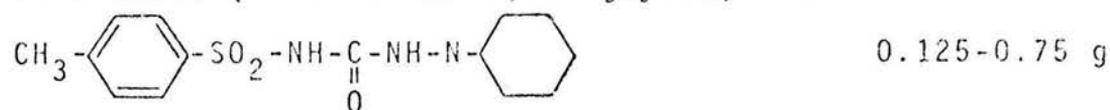
Glucodiacina (sin. Redul)



Cloropropamida (sin. Cloronase, Diabetoral)



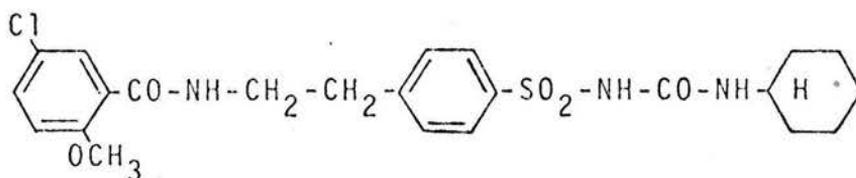
Tolazamida (sin. Tolinase, Norglycin)



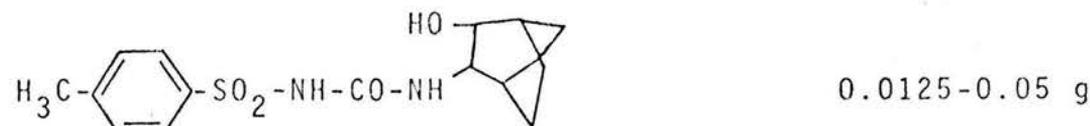
Acetohexamida (sin. Dimelor)



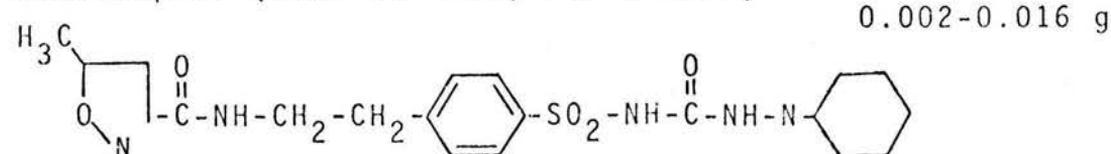
Glubenclamida (sin. HB 419, Daonil) 0.0025-0.015 g



Glubornurida (sin. Ro 6-4563, Glutril)



Glusoxepida (sin. BS 4231, Pro-Diaban)



## Reacciones adversas de las biguanidas.

Las biguanidas producen intolerancia digestiva. Se han descrito particularmente acidosis lácticas graves, a veces mortales, cuya fisiopatología es desconocida. (9).

## III. Etnofarmacología en México.

México cuenta con una amplia diversidad vegetal, por sus características geográficas, variedad de climas, además de sus diferentes características edáficas. Por otra parte, el acervo cultural, médico-popular se haya caracterizado por el variado mosaico étnico que conforma la cultura del país.

En la actualidad se conocen unas 21 especies de plantas medicinales que se utilizan en México para el tratamiento de la diabetes; las plantas que se utilizan para este fin son: *Acrocomia mexicana*, *Bidens leucantha*, *Bidens pilosa*, *Cacalia decomposita*, *Calamintha macrostema*, *Capnaria biflora*, *Cecropia obtusifolia*, *Coutarea latiflora*, *Eucalyptus globulus*, *Eysenhardtia polystachya*, *Loeselia mexicana*, *Permantiera edulis*, *Psittacanthus calyculatus*, *Salpianthus arenarius*, *Tecoma stans*, *Turnera diffusa*, *Valeriana edulis* ssp. *procera*, *Valeriana mexicana*, *Valeriana officinalis*, *Verbesina crocata* y *Verbesina percifolia*. (6,7,8,10).

Con las plantas antes mencionadas se realizó un bioensayo (27) para verificar su acción hipoglucemiante, los resultados de esta investigación indican que de las 21 plantas, 9 de ellas presentan dicha actividad. Las especies activas son las siguientes: *A. mexicana*, *C. macrostema*, *C. biflora*, *C. obtusifolia*, *C. latiflora*, *P. calyculatus*, *S. arenarius*, *Tecoma stans* y *T. diffusa*.

En la actualidad, no obstante el crecimiento de la in-

dustria farmacéutica y la enorme producción de medicamentos de síntesis, el interés por las plantas medicinales persiste e incluso parece resurgir un renovado entusiasmo por la herbolaria y se emplean cada vez con mayor frecuencia, preparaciones elaboradas con hierbas medicinales. Sin embargo, las investigaciones dirigidas hacia el aislamiento de los principios activos hipoglucemiantes y sus efectos farmacológicos y toxicológicos es casi nula. Cabe hacer notar que los preparados vegetales en algunos casos pueden ser más tóxicos que las contraindicaciones de los fármacos fabricados sintéticamente, debido al desconocimiento de los compuestos presentes en dichos preparados vegetales. Por lo anteriormente mencionado es necesario efectuar trabajos de investigación en relación a este problema (19).

Se requiere una detallada valoración del conocimiento médico popular que permita impulsar formas combinadas de tratamiento y curación donde la medicina tradicional ocupe el verdadero lugar que le corresponde, a la par de los conocimientos científicos, en beneficio de la salud de la población mayoritaria de nuestro país. Para iniciar esta laboriosa tarea es indispensable un profundo análisis de la información que se ha venido acumulando en la medicina tradicional sobre las plantas medicinales, sus usos, sus características así como la investigación de los fármacos que potencialmente se pueden aislar de ellas.

La planta que ocupa nuestro estudio, *Cecropia obtusifolia*, ha sido usada por diversas comunidades de nuestro país para el tratamiento de úlceras gástricas, desintería, enfermedades de transmisión sexual, afecciones del hígado, antiasmático, además como antidiabético (7).

Para el tratamiento de la diabetes la gente prepara in-

fusiones de hojas y las consume después de cada comida y algunas veces entre ellas.

DESCRIPCION BOTANICA DE *CECROPIA OBTUSIFOLIA*.

Sinonimia. *Cecropia mexicana* Hemsl.

Nombres comunes. Guarumo, guarumbo (Veracruz, Oaxaca, Tabasco y Chiapas); chancarro (Veracruz y Oaxaca); hormiguillo (Veracruz, Oaxaca y Tabasco); trompetillo (San Luis Potosí, Hidalgo y Veracruz).

Forma. Arbol monopódico hasta de 20 metros y diámetro hasta de 50 cm., con el tronco derecho, hueco, produciendo pequeños contrafuertes o más frecuentemente raíces sancudas de sección circular; copa irregular, estratificada, con pocas ramas gruesas, saliendo horizontalmente del tronco.

Corteza. Externa, lisa, gris clara, con grandes cicatrices circulares de estípulas caídas y abundantes lenticelas negras dispuestas en líneas longitudinales. Interna de color crema verdoso a crema claro, cambiando a pardo oscuro, fibroso, con un exudado que se vuelve negro al contacto con el aire; grosor total de la corteza de 3 a 8 mm.

Madera. Albura amarillenta con vasos grandes y rayos estrechos conspicuos; se observa parénquima vasicéntrico, aliforme, y a veces bandas de parénquima apotraqueal.

Ramas jóvenes. Pardo verdosas, muy gruesas, con lenticelas morenas muy notables y cicatrices anulares de estípulas caídas, huecas, tabicadas, alojando a numerosas y agresivas hormigas (Género *Azteca*), cubiertas por pelos cortos y rígidos.

Hojas. Yemas hasta de 12 cm. de largo, agudas, cubier-

tas por una gran estípula, roja grisácea, pubescente. Estípula una para cada hoja, hasta de 12 cm. de largo, ovada, aguda, pubescente, caediza. Hojas dispuestas en espiral y aglomeradas en los puntos de las ramas, simples, peltadas y profundamente palmado-partidas; láminas de 25 a 50 cm. de diámetro, con 8 a 12 lóbulos oblongos a oblanceolados con el ápice agudo o redondeado; verde oscura y brillantes en la haz y grisáceas en el envés; glabras y ásperas en la haz con abundante pubescencia pequeña y aracnoide en el envés; nervación rojiza y prominente en el envés; láminas membranosas; pecíolos gruesos de 15 a 40 cm. de largo, conspicuamente surcados y pubescentes.

Flores. Especie dioica. Flores en espiga, axilares, sostenidas por una bráctea espatiforme caediza. Espigas masculinas pardo grisáceas, 12-15, de 8 a 10 cm. de largo, en pedúnculos de 4 a 5 cm. de largo. Flores con perianto tubular, truncado, con 2 estambres exertos. Espigas femeninas 4-6, de 13 a 20 cm. de largo y 5 mm. de ancho, en pedúnculos de 8 a 9 cm. de largo, flores separadas por una masa de pelos blancos, con un pequeño perianto tubular y el ovario unilocular, uniovular, con el estigma capitado exerto. Los pedúnculos contienen un exudado amarillento que se torna negro al contacto del aire. Florecen durante casi todo el año.

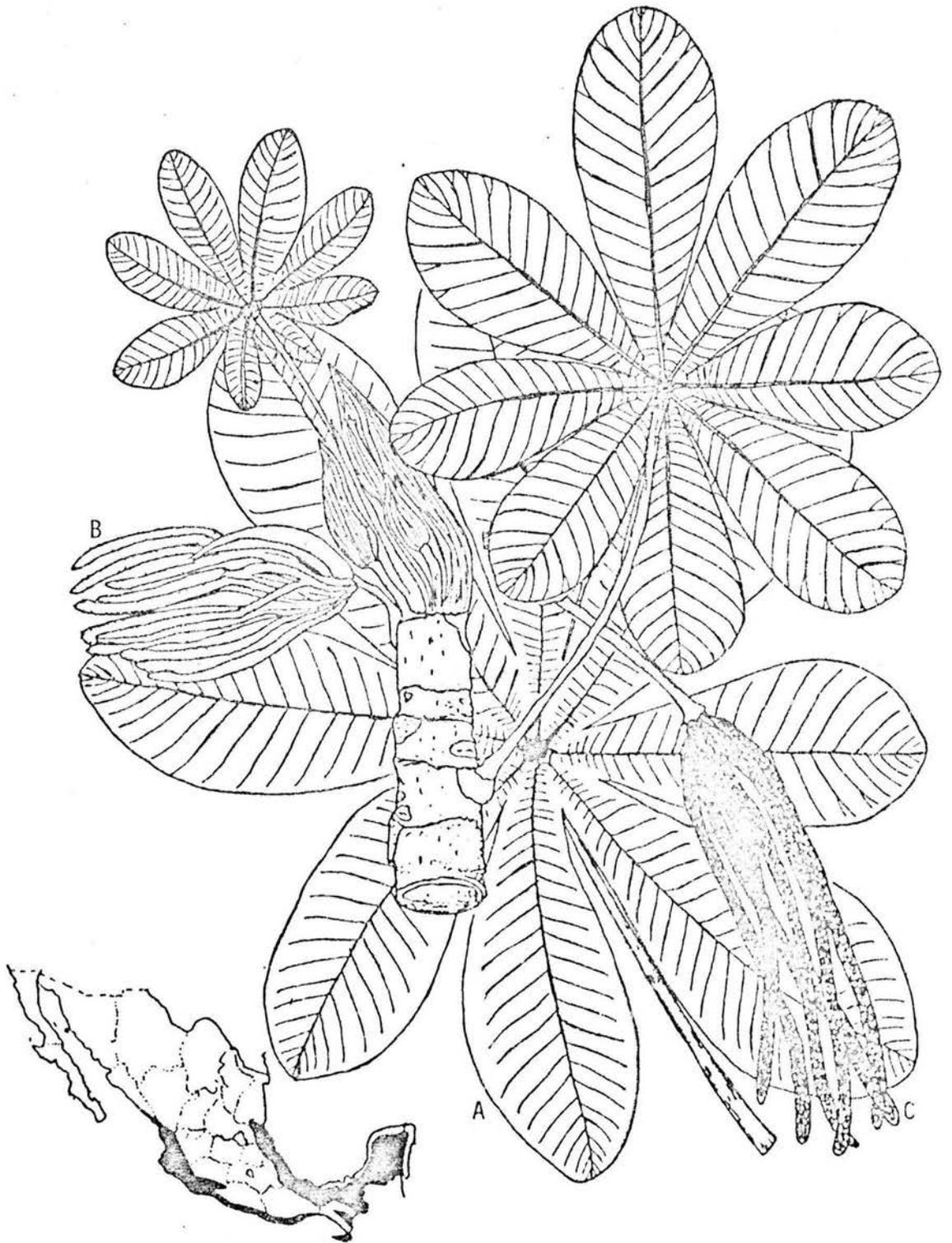
Frutos. Aquenios agregados en las espigas, muy pequeños conteniendo una semilla, de sabor muy parecido al del higo cuando está maduro. Maduran durante todo el año.

Ecología y distribución. Una de las especies pioneras de la vegetación secundaria más abundantes y conspicuas de las zonas tropicales, tienen una amplia área de distribución en México, desde Tamaulipas y San Luis Potosí hasta Yucatán y Quintana Roo en la vertiente del Golfo y desde el sur de

Sinaloa hasta Chiapas en la del Pacífico. Se presenta en vegetación secundaria derivada de cualquier tipo de selva, excepto en la selva baja caducifolia y espinosa, y en las zonas con precipitaciones marginales a las del clima A, hasta altitudes de 700 a 800 msnm. Se desarrolla por igual en suelos con impedimentos de drenaje, tanto de origen volcánico como calizo sedimentario o metamórfico. Tiene crecimiento rápido; puede alcanzar hasta 15 m. de alto y 50 a 60 cm de diámetro en 12 o 15 años.

Usos. Se ha probado para la fabricación de tableros aglomerados y pulpa de papel, pero presenta problemas en su industrialización por la cantidad de gomas y resinas que contiene. Como planta medicinal.

Especies afines. En la costa del Pacífico, especialmente Oaxaca y Chiapas, se encuentra *Cecropia pellata* L., diferenciable únicamente por el tamaño notablemente menor de las espigas pistiladas y estaminadas. (12,26,34).



*Cecropia obtusifolia*. A, hoja; B, rama con inflorescencia masculina; C, inflorescencia femenina.

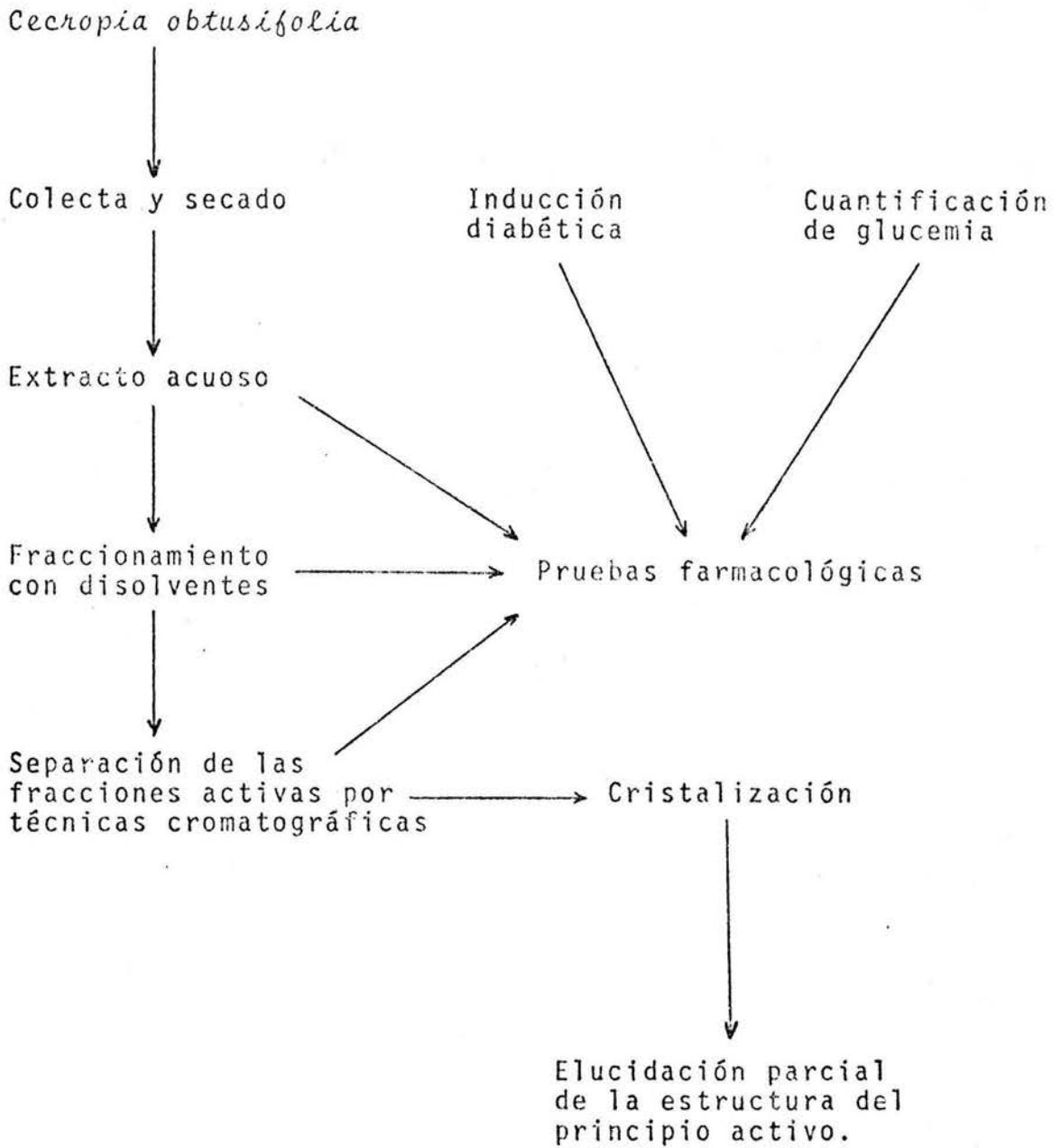
## OBJETIVOS

Verificar la acción hipoglucemiante del extracto acuoso de la planta *Cecropia obtusifolia* Bertol.

Aislar y purificar el o los principios activos responsables de la acción hipoglucemiante.

Elucidación parcial de la estructura del o los compuestos con actividad biológica.

DIAGRAMA DE INVESTIGACION



## MATERIAL Y METODOS

Inducción de diabetes por medio de aloxana.

Para este estudio se tomaron ratones cepa CD<sub>1</sub>, machos, con un peso de 22 a 25 g cada uno. La determinación de la glucosa se hizo con el método de la glucosa oxidasa. Los ratones se dividieron en lotes de 5 animales cada uno y se les aplicó por la vena ventrolateral de la cauda cada tres días, una dosis de 70 mg/Kg de peso de aloxana (Merck) disuelta en agua (30). Al cabo de 17 días se determinó la glucosa en sangre a los ratones, aquellos que presentaron hiperglucemia (100 mg/100 ml o más de glucosa) se tomaron para los bioensayos, cuidando estandarizar cada uno de los lotes experimentales.

Determinación de la glucosa en sangre.

La glucosa oxidasa es una enzima que se encuentra en el medio de crecimiento de *Penicillium notatum* y cataliza la oxidación de  $\beta$ -D-glucopiranososa a D-glucono-1,5-lactona con la formación de peróxido de hidrógeno; la lactona es luego hidrolizada lentamente a ácido D-glucónico. La enzima es específica para  $\beta$ -D-glucopiranososa, pero la mayoría de las preparaciones de la enzima contienen mutarrotasa, que cataliza la interconversión de las formas  $\alpha$  y  $\beta$ . La D-manosa y la D-xilosa son también oxidadas por la enzima pero a velocidades de aproximadamente 1/100 de la correspondiente a la D-glucosa. El método es por lo tanto altamente específico para la glucosa. En la mezcla de reacción se incluye también peroxidasa y o-toluidina; la enzima libera oxígeno a partir del peróxido de hidrógeno y reacciona con la o-toluidina para dar un color azul. La reacción es rápida a temperatura ambiente

pero el color es inestable, el tiempo más conveniente para hacer las lecturas es de ocho minutos, pero debe ser verificado mediante la solución patrón de glucosa.



#### Materiales:

- 1). Sulfato de zinc heptahidratado, 100 g/l.
- 2). Sulfato de sodio isotínico (93 mmol/l).
- 3). Reactivo de sulfato de sodio y sulfato de zinc (Se diluyen 55 ml de sulfato de zinc a un litro de la solución de sulfato de sodio).
- 4). Hidróxido de sodio (0.5 mol/l).
- 5). Amortiguador de acetato (0.15 ml/l, pH 5.0).
- 6). Solución de glucosa oxidasa (Fermcozyme de Hughes y Hughes).
- 7). Peroxidasa (1 mg/ml).
- 8). O-toluidina (10 g/l en etanol absoluto, en botella oscura).
- 9). Reactivo combinado de o-toluidina: 150 ml de amortiguador de acetato y 1 ml de glucosa oxidasa, 1 ml de peroxidasa, 1 ml de o-toluidina. La preparación es activa por varias semanas si se guarda en una botella oscura a 4°C.

10). Patrón de glucosa (0.1 g/l).

11). Espectrofotómetro.

Procedimiento:

En un tubo de centrífuga se colocan 1.8 ml del reactivo de sulfato de sodio-sulfato de zinc y se añaden 0.1 ml de la muestra (sangre que se extrae de los ratones). Se añade 0.1 ml de hidróxido de sodio, se centrifuga y se toma 1 ml del sobrenadante.

Blanco: 1 ml de agua destilada.

Patrones: 1 ml de la solución de glucosa de concentración apropiada.

Se agregan 5 ml del reactivo combinado de la o-toluidina y se mezclan vigorosamente. Se dejan reposar los tubos por ocho minutos exactamente y se lee el color a 625 nm (29).

Administración de los problemas.

Los extractos, así como cada una de las fracciones se administraron por vía intraperitoneal, en el caso del extracto acuoso se preparó una infusión con 50 g de hojas secas en 200 ml de agua destilada. Por lo que se refiere a los demás extractos, así como a cada una de las fracciones se prepararon soluciones concentradas de cada una de ellas. En todos los casos se inyectó 0.5 ml de las soluciones a cada ratón. A los ratones testigo se les inyectó 0.5 ml de agua destilada. Los lotes de ratones consistieron de 5 individuos cada uno alimentados con alimento Purina. Durante los bioensayos se les retiró el alimento.

Colecta y secado.

La planta *Cecropia obtusifolia* Bertol, se colectó en las cercanías de Fortín de las Flores, Veracruz, durante el mes de mayo de 1983. Dado que la planta presenta una extensa distribución a lo largo del país, se escogió esta zona por que ella es una de las regiones donde más se utiliza este vegetal como agente antidiabético (6,7,8).

Las características de la zona son las siguientes:

Altitud norte: 18°53'

Latitud: longitud oeste 97°01'

Suelo: vertisol crómico y pélico.

Vegetación predominante: selva alta perennifolia con vegetación secundaria arbórea.

Se colectaron aproximadamente 20 Kg de hojas (peso húmedo); y algunas inflorescencias (tanto machos como hembras). Algunos ejemplares de hojas y de inflorescencias se secaron en prensas para su posterior identificación; los ejemplares restantes se secaron a la sombra durante 25 días. El material seco se molió en un molino de cuchillas con el objeto de obtener una mayor superficie de contacto durante la extracción.

Aislamiento del principio activo.

Se extrajeron a temperatura de ebullición 3 Kg de hojas (peso seco) durante ocho horas en seis litros de agua bidestilada; el extracto resultante se filtró usando fibra de vidrio. El extracto acuoso se concentró a un volumen de 250 ml, a éste concentrado acuoso se le añadieron 500 ml de metanol con el objeto de precipitar los carbohidratos, los cuales se separaron por filtración. Posteriormente a la solución metanólica (A) y al residuo ciruposo (B) se les determinó su ac-

tividad antidiabética.

La solución metanólica (A) se concentró a sequedad bajo presión reducida en un rotavapor marca Buchi, el residuo se solubilizó parcialmente en etanol (C), la fase insoluble (D) se separó por filtración; igual que en el caso anterior, a ambos se les determinó su actividad hipoglucemiante.

Fraccionamiento con disolventes:

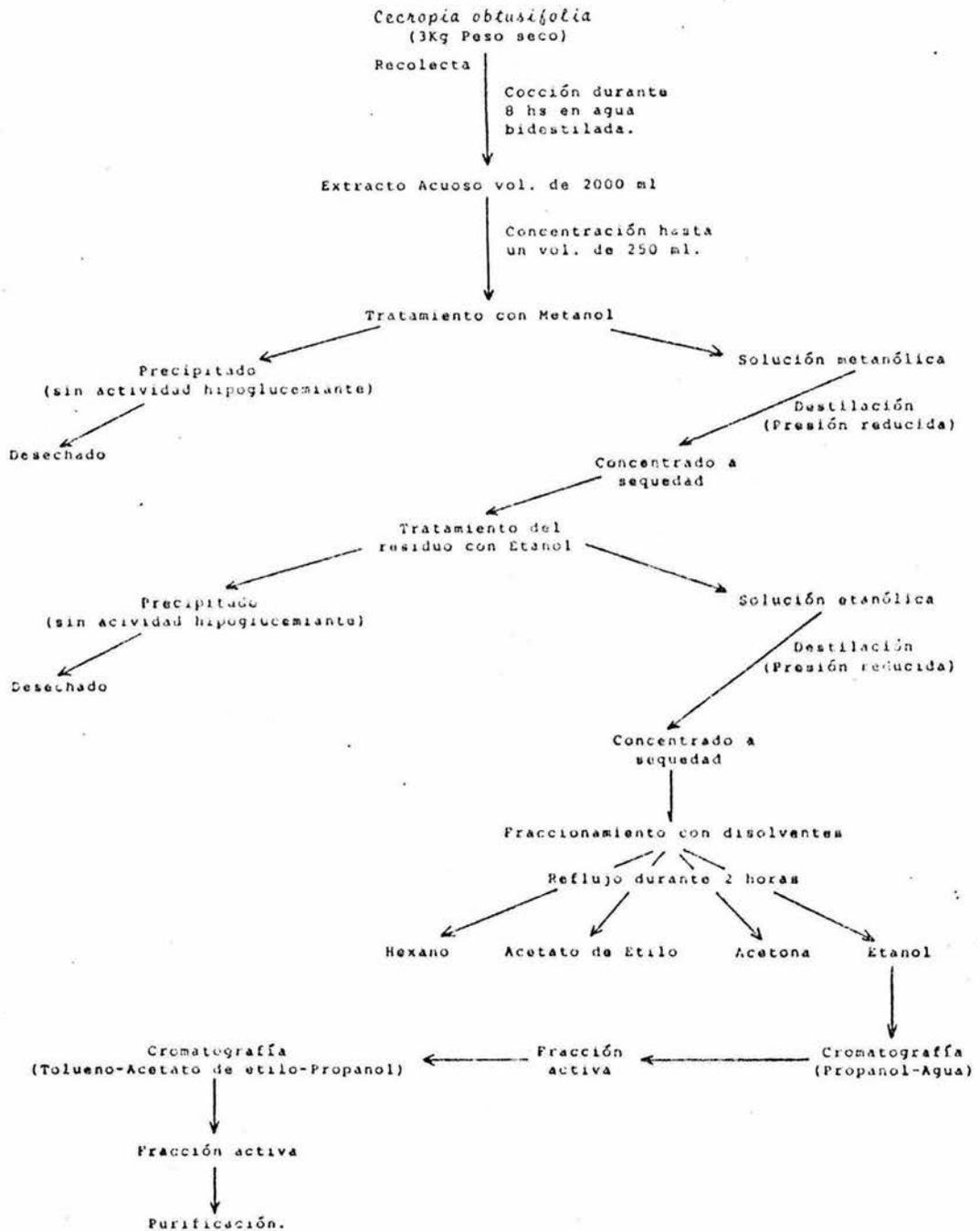
La solución alcohólica se concentró a sequedad a presión reducida, el residuo así obtenido se reflujo consecutivamente en hexano (E) con el objeto de eliminar grasas, con acetato de etilo (F) con el objeto de eliminar compuestos de polaridad intermedia, y con acetona (G) con la finalidad de separar sustancias de polaridad moderada. Los resultados de los bioensayos se muestran en las tablas. Al final de este proceso se obtuvo un residuo que se disolvió totalmente en 150 ml de etanol.

Separación cromatográfica:

La solución alcohólica se cromatografió en columna húmeda usando como fase estacionaria sílica gel 60 de malla 70-230 y como fase móvil una mezcla de propanol-agua 2:1 v/v; de esta cromatografía se obtuvieron ocho fracciones a las cuales se les determinó su efecto hipoglucemiante.

La fracción activa se cromatografió bajo las mismas condiciones que el anterior, utilizando en éste caso como eluente una mezcla de tolueno-acetato de etilo-propanol 2:6.6:1.4 v/v. Como resultado de esta separación se obtuvieron ocho fracciones volviendo con ellas a repetir las pruebas farmacológicas.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL AISLAMIENTO DEL PRINCIPIO ACTIVO



### Purificación.

La fracción activa se cromatografió en capa fina de sílica gel con el fin de observar el grado de pureza; para ello se emplearon los siguientes sistemas de disolventes:

- a). Tolueno-acetato de etilo-propanol 2:6.6:1.4 v/v.
- b). Propanol.
- c). Etanol.
- d). Acetato de etilo-cloroformo 5:2 v/v.
- e). Etanol-agua 4:1 v/v.
- f). Piridina-agua 4:1 v/v.
- g). Etanol-acetona 2:1 v/v.

### Elucidación de la estructura.

Al compuesto puro se le determinó su análisis fundamental en los laboratorios Galbraith, Inc. de Knoxville, Tenn.

El estudio espectroscópico del compuesto puro consistió de los siguientes análisis:

Espectro UV: en un espectrofotómetro UV/Vis marca Hewlett-Packard modelo 8450 A.

Espectro Infra-rojo: en un espectrofotómetro IR Beckman modelo Acculab 10.

Espectro de Resonancia magnética nuclear: en una resonancia de protones Varian 60.

Espectro de masas: en un espectrómetro de masas Hewlett Packard GC/MS System modelo 5993.

## RESULTADOS

## I). Bioensayos.

El extracto acuoso presentó efecto hipoglucemiante, los resultados del bioensayo se muestran en la siguiente tabla:

Series a=2

	I Control (glucosa mg/100 ml)	II Experimental (glucosa mg/100 ml)
Inicial	275.0	266.5
4 hs	250.4	20.3
6 hs	210.4	45.1
8 hs	232.5	66.8
Suma total = $\sum Y$	968.30	398.22
Media = $\bar{Y}$	242.07	99.55
Suma de los Y cuadrados = $\sum Y^2$	236649.57	77933.26

A los resultados de este bioensayo, así como al de los siguientes, se les realizó un análisis de varianza en su caso especial para dos grupos con tamaño igual de muestra (control, experimental) (1,33); en todos los casos (puesto que se usó el mismo número de ratones), se trabajó con un nivel de confianza del 95% y con 1 y 6 grados de libertad (entre grupos y entre tratamientos) (33). El análisis de varianza para el extracto acuoso y el control se muestra enseguida:

$$1. \text{ Gran total} = \sum^a \sum^n Y = 968.30 + 398.22 = 1366.52$$

$$2. \text{ Suma de los Y cuadrados de las dos series} =$$

$$\sum^a \sum^n Y^2 = 236649.57 + 77933.26 = 314582.83$$

3. Suma de los cuadrados de los totales de los grupos dividida por  $n = \frac{1}{n} \sum (\sum Y)^2 = \frac{(968.30)^2 + (398.22)^2}{4} = \frac{937604.99 + 158579.16}{4} = 274046.01$

4. Gran total elevado al cuadrado y dividido por el tamaño de la muestra = término de corrección =

$$ct = \frac{1}{an} (\sum \sum Y)^2 = \frac{(1366.22)^2}{8} = 233319.63$$

5. Suma de los cuadrados totales = SS total =

$$\text{cantidad 2} - \text{cantidad 4} = 314582.83 - 233319.63 = 81263.20$$

6. Suma de los cuadrados de los grupos = SS grupos =

$$\text{cantidad 3} - \text{cantidad 4} = 274046.01 - 233319.63 = 40726.38$$

7. Suma de cuadrados dentro de grupos = SS total - SS grupos =

$$\text{cantidad 5} - \text{cantidad 6} = 81263.20 - 40726.38 = 40536.82$$

Tabla ANOVA

Fuente de variación	g.l.	SS	$MS = \frac{SS}{g1}$	$Fs = \frac{MS \text{ grupos}}{MS \text{ dentro}}$
Entre grupos (entre tratamientos)	a-1 = 1	40726.38	40726.38	$\frac{40726.38}{6756.15} =$
Dentro de grupos (error dentro de series)	a(n-1) = 6	40536.82	6756.15	
Total	an -1 = 7	233319.63		6.03

g1 = grados de libertad

SS = suma de cuadrados

MS = cuadrados medios

Fs = coeficiente de variación

F tablas =  $F_{0.05} [1,6] = 5.99$  ;  $Fs \text{ experimental} = 6.03$

Conclusión: Dado que  $F_s > F_{0.05}$  [1,6] se rechaza la hipótesis nula. Las medias de las dos series son diferentes significativamente; es decir, las dos series difieren en la concentración de glucosa, ya que el extracto acuoso produce un efecto hipoglucemiante.

Los resultados del efecto hipoglucemiante de las separaciones siguientes (Solución metanólica A, residuo ciruposo B) se muestran a continuación, así como sus coeficientes de variación (Fs).

	SOLUCION METANOLICA A		RESIDUO CIRUPOSO B	
	I Control (glucosa mg/100 ml)	II Experimental (glucosa mg/100 ml)	I Control (glucosa mg/100 ml)	II Experimental (glucosa mg/100 ml)
Inicial	175.40	172.50	350.00	239.10
4 hs	168.20	81.80	362.40	305.10
6 hs	170.40	43.67	372.40	354.19
8 hs	171.30	57.75	354.10	350.40
$\Sigma Y$	683.30	355.72	1438.90	1248.70
$\bar{Y}$	171.32	88.93	359.72	312.17

$F_s$  solución metanólica A= 8.07     $F_s$  residuo ciruposo= 3.04

$F$  tablas =  $F_{0.05}$  [1,6] = 5.99

$F_s$  solución metanólica A >  $F_{0.05}$  [1,6];

$F_s$  residuo ciruposo B <  $F_{0.05}$  [1,6]

En este caso se observa que en el proceso de precipitación de carbohidratos, el residuo ciruposo B (principalmente carbohidratos) no presentó efecto significativo por lo cual se siguió trabajando con la solución metanólica A; activa, de esta solución, se obtuvo otra separación en dos fases; u-

na soluble en etanol y otra insoluble, los resultados de la administración de estas dos fases se muestran a continuación:

	SOLUCION ETANOLICA C		FASE INSOLUBLE D	
	I Control (glucosa mg/100 ml)	II Experimental (glucosa mg/100 ml)	I Control (glucosa mg/100 ml)	II Experimental (glucosa mg/100 ml)
Inicial	204.10	208.80	214.30	213.85
4 hs	198.40	88.67	250.20	214.27
6 hs	210.50	49.57	224.00	218.15
8 hs	206.50	48.87	222.40	217.70
$\Sigma Y$	819.50	396.11	910.90	863.97
$\bar{Y}$	204.87	99.02	227.72	215.99

Fs Solución etanólica C = 7.82

Fs Fase insoluble D = 2.22

Fs tablas =  $F_{0.05} [1,6] = 5.99$

Fs Solución etanólica  $> F_{0.05} [1,6]$ ;

Fs Fase insoluble  $D < F_{0.05} [1,6]$ .

La solución etanólica activa, se concentró a sequedad para llevar a cabo un fraccionamiento con disolventes de diferente polaridad, en todos los casos (E, F, G) no se presentó actividad hipoglucemiante como lo demuestra su coeficiente de variación (Fs) que en las siguientes tablas se muestran:

SOLUCION HEXANICA E

	Inicial	4 hs	6 hs	8 hs	$\Sigma Y$	$\bar{Y}$	Fs
I Control (glucosa mg/100 ml)	155.60	150.00	145.00	145.00	595.60	148.90	1.52
II Experimental (glucosa mg/100 ml)	158.02	147.75	150.16	157.70	613.57	153.39	

$$F_s < F_{0.05} (1,6)$$

SOLUCION DE ACETATO DE ETILO F

	Inicial	4 hs	6 hs	8 hs	$\Sigma Y$	$\bar{Y}$	Fs
I Control (glucosa mg/100 ml)	175.00	150.50	165.40	160.30	615.20	162.80	-9.29
II Experimental (glucosa mg/100 ml)	143.75	166.27	158.82	149.15	617.99	154.49	

$$F_s < F_{0.05} (1,6)$$

SOLUCION ACETONICA G

	Inicial	4 hs	6 hs	8 hs	$\Sigma Y$	$\bar{Y}$	Fs
I Control (glucosa mg/100 ml)	190.00	204.00	192.30	181.40	767.70	191.92	4.61
II Experimental (glucosa mg/100 ml)	180.00	178.85	184.77	182.50	726.12	181.53	

$$F_s < F_{0.05} (1,6)$$

A las ocho fracciones diferentes que resultaron como producto de la cromatografía en columna se les determinó actividad hipoglucemiante; en este caso, se hizo un análisis de varianza general (ANOVA forma general) (33) obteniéndose una variación general significativa; los resultados son mostrados a continuación:

CROMATOGRAFIA PROPANOL H<sub>2</sub>O 2:1 v/v  
(glucosa mg/100 ml)

	Inicial	4 hs	6 hs	8 hs
Control $\bar{X}$	157.22	163.86	173.77	169.66
F <sub>1</sub> $\bar{X}$	131.00	138.62	173.65	155.65
F <sub>2</sub> $\bar{X}$	162.90	179.85	179.05	178.02
F <sub>3</sub> $\bar{X}$	168.60	167.87	174.72	155.25
F <sub>4</sub> $\bar{X}$	165.62	163.22	163.85	162.00
F <sub>5</sub> $\bar{X}$	144.37	<u>24.00</u>	<u>42.50</u>	<u>50.62</u>
F <sub>6</sub> $\bar{X}$	140.87	143.10	146.65	146.05
F <sub>7</sub> $\bar{X}$	180.32	182.62	182.47	184.42
F <sub>8</sub> $\bar{X}$	186.17	184.70	192.82	196.87

Fs = 13.53 ; F de tablas = F<sub>0.05</sub> (8,26) = 2.32 ;

Fs > F tablas.

Como F<sub>0.05</sub> (8,26) = 2.32 la comparación es altamente significativa, se rechaza la hipótesis nula muy por debajo del 5%, existe variación entre las fracciones y el control.

Posteriormente se comparó la fracción 5 con el control mediante un ANOVA, puesto que esta fracción fue la que presentó mayor variación; los resultados se muestran enseguida

SERIES a= 2

	I Control (glucosa mg/100 ml)	F <sub>5</sub> Experimental (glucosa mg/100 ml)
Inicial	155.22	144.37
4 hs	163.86	24.00
6 hs	173.77	42.50
8 hs	169.66	50.62
Suma total= $\Sigma Y$	664.51	261.49
Media = $\bar{Y}$	166.12	65.37
Suma de los $Y$ cuadrados= $\Sigma Y^2$	110548.73	25787.32

Tabla ANOVA

Fuente de variación	g.l.	SS	$MS = \frac{SS}{g.l}$	$F_s = \frac{MS \text{ grupos}}{MS \text{ dentro}}$
Entre grupos (entre tratamientos)	a-1 = 1	20302.14	20303.14	$\frac{20303.14}{1474.73} =$
Dentro de grupos (error dentro de series)	a(n-1) = 6	8848.41	1474.73	
Total	an - 1 = 7	107184.50		13.76

g.l = grados de libertad

SS = suma de cuadrados

MS = cuadrados medios

F<sub>s</sub> = coeficiente de variación

F tablas =  $F_{0.05}(1,6)$  = 5.99 ; F<sub>s experimental</sub> = 13.75

Conclusión: Se rechaza la hipótesis nula dado que  $F_s > F_{0.05}$  [1,6]. Las medias de los dos tratamientos son diferentes significativamente, las dos series difieren en la variación de glucosa.

Al cromatografiarse la fracción activa (5) se siguió el mismo procedimiento que en el caso anterior. Los resultados se muestran a continuación:

CROMATOGRAFIA TOLUENO-ACETATO DE ETILO-n-PROPANOL

2 : 6.6 : 1.4 v/v  
(glucosa mg/100 ml)

	Inicial	4 hs	6 hs	8 hs
Control $\bar{X}$	177.63	177.26	186.97	179.62
F <sub>I</sub> $\bar{X}$	178.00	176.82	179.77	179.25
F <sub>II</sub> $\bar{X}$	165.00	<u>48.12</u>	<u>45.75</u>	<u>62.07</u>
F <sub>III</sub> $\bar{X}$	169.92	170.32	171.35	180.35
F <sub>IV</sub> $\bar{X}$	209.90	210.82	213.42	211.05
F <sub>V</sub> $\bar{X}$	168.00	164.65	166.42	169.50
F <sub>VI</sub> $\bar{X}$	140.05	112.40	119.72	120.87
F <sub>VII</sub> $\bar{X}$	146.77	163.10	179.10	174.15
F <sub>VIII</sub> $\bar{X}$	270.00	279.90	298.80	301.95

$F_s = 29.11$  ; F de tablas =  $F_{0.05}$  [8,26] = 2.32 ;

$F_s > F$  tablas

Como  $F_{0.05} [8,26] = 2.32$  la comparación es altamente significativa, se rechaza la hipótesis nula muy por debajo del 5%, existe variación entre las fracciones y el control. En este caso, la fracción  $F_{II}$  fue la que provocó efecto hipoglucemiante, la comparación de este efecto entre el control y la fracción  $F_{II}$  se muestran en la siguiente tabla.

SERIES a=2

	I Control (glucosa mg/100 ml)	$F_{II}$ Experimental (glucosa mg/100 ml)
Inicial	177.63	165.00
4 hs	177.26	48.12
6 hs	186.97	45.75
8 hs	179.62	62.07
Suma total= $\Sigma Y$	721.48	320.94
Media= $\bar{Y}$	180.37	80.23
Suma de los $Y$ cuadrados= $\Sigma Y^2$	130194.63	35486.75

Tabla ANOVA

Fuente de variación	g.l.	SS	MS = $\frac{SS}{g1}$	Fs = $\frac{MS \text{ grupos}}{MS \text{ dentro}}$
Entre grupos (entre tratamientos)	a-1 = 1	20054.78	20054.78	$\frac{20054.78}{1632.89} =$
Dentro de grupos (error dentro de series)	a(n-1) = 6	9797.37	1632.89	
Total	an -1 = 7	29852.15		12.28

g1 = grados de libertad

SS = suma de cuadrados

MS = cuadrados medios

Fs = coeficiente de variación

F tablas =  $F_{0.05} [1,6] = 5.99$  ; Fs experimental = 12.28

Conclusión: Se rechaza la hipótesis nula dado que  $F_s > F_{0.05}$  [1,6]. Las medias de los dos tratamientos son diferentes significativamente, La fracción  $F_{II}$  presenta efecto hipoglucemiante.

## II). Elucidación de la estructura.

La fracción  $F_{II}$  presentó 50 mg de un compuesto amorfo, de color amarillo (muy higroscópico) con un rendimiento del 0.0016%, debido a ello no se calculó su punto de fusión. La pureza de la sustancia se determinó por cromatografía en placa fina en varios sistemas de disolventes; en todos los casos se obtuvo una mancha, indicándonos este parámetro una pureza aceptable para realizar el estudio espectroscópico del compuesto.

El compuesto hipoglucemiante presentó el análisis elemental siguiente: C, 71.4%; H, 11.4%; O, 17.1%; y el análisis elemental calculado: C, 71.8%; H, 11.3%; O, 16.9%.

La fórmula empírica del compuesto es  $C_{17}H_{32}O_3$ , con un peso molecular (calculado por espectroscopía de masas) de 284.

El compuesto presentó una absorción máxima en UV ( $\lambda_{max}$ ) a 292 nm (en etanol).

El espectro infrarrojo de la sustancia mostró las siguientes bandas:

- a  $3330\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de OH.
- a  $2960\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $-CH_3$ .
- a  $2850\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $-CH_2$ .
- a  $2910$  y  $1260\text{ cm}^{-1}$  características de función eter.

La resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$  NMR),  $\delta^{\text{DMSO}}$  ppm mostró las siguientes señales:

- a 0.75, 0.80, 0.90, 1.00, 1.25 (m) ——— (24 H,m)
- a 3.3 (m) ——— (6 H,m)
- a 3.5 (m) ——— (2 H)

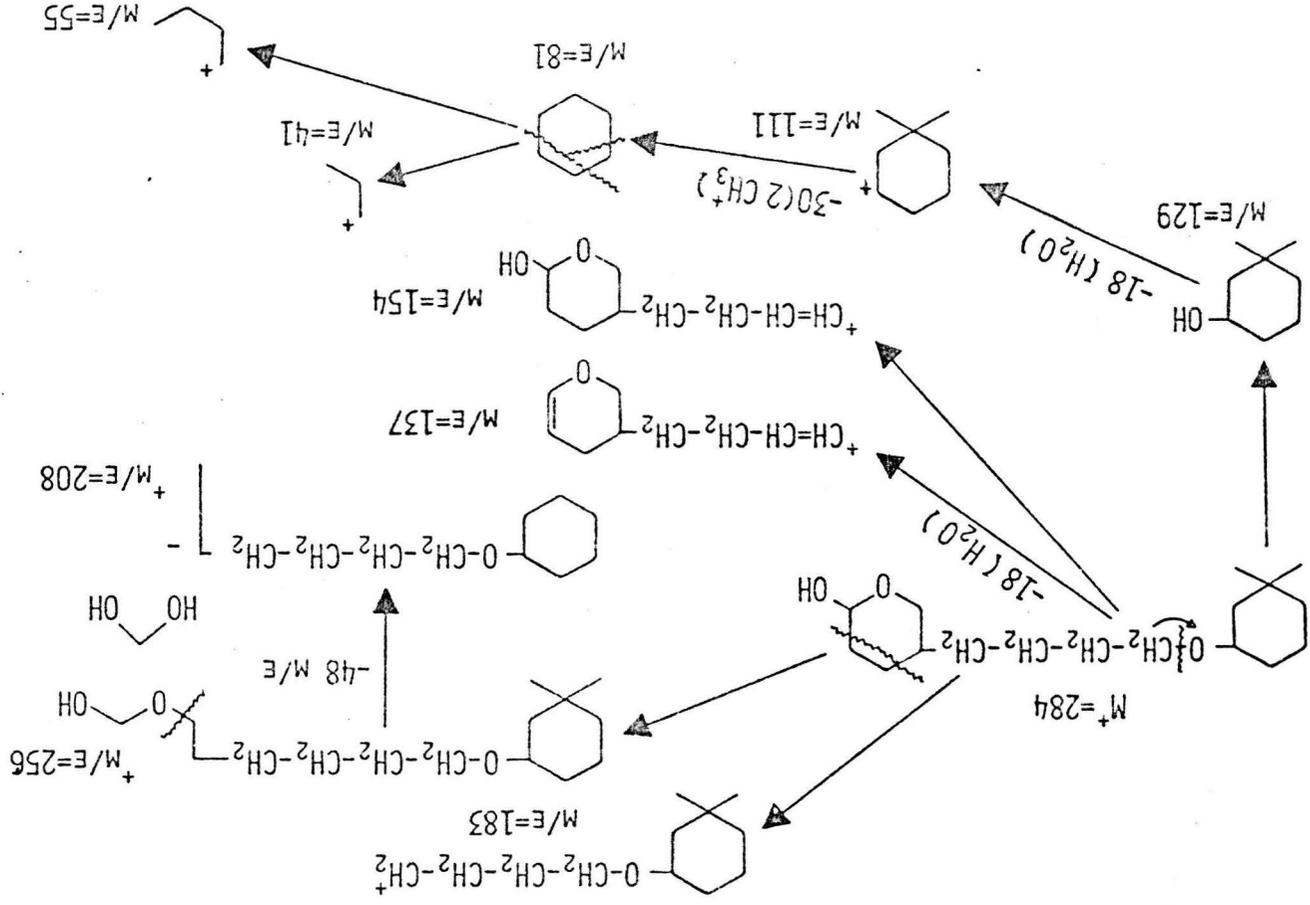
Las masas de los iones principales del compuesto de acuerdo al espectro de masas se muestran enseguida:

MASA	ABUNDANCIA RELATIVA
256	2.85 %
208	17.14 %
183	2.80 %
154	71.42 %
137	100.00 %
129	17.44 %
111	14.28 %
81	34.28 %
55	74.28 %
41	42.85 %

La masa del ion molecular fue de 284. El mapa de fragmentación propuesto para el compuesto se presenta en la figura No. 1.

De acuerdo a este mapa y a la información espectroscópica recabada (UV, IR,  $^1\text{H}$  NMR), la estructura propuesta para el compuesto hipoglucemiante es presentada en la figura No.2

MAPA DE FRAGMENTACION  
FIGURA No. 1



1 (CICLOHEXOXI, 3,3 DIMETIL) 4 (4 HIDROXI, TETRAHIDRO PIRANO) BUTANO

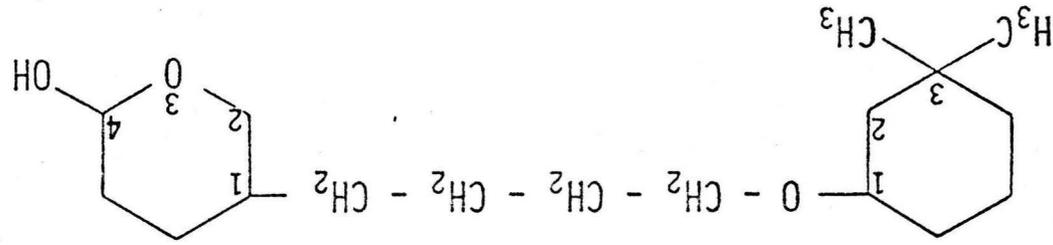


FIGURA No. 2

## DISCUSION

Muy pocos principios activos hipoglucemiantes de naturaleza vegetal se han aislado e identificado, debido quizá, a que este tipo de compuestos por ser metabolitos secundarios, son biosintetizados solo en trazas y el rendimiento al final del proceso es muy escaso. Para el presente trabajo, no se tenía información acerca de la naturaleza fisicoquímica del compuesto, el método usado fue el de "rastrear" el principio activo, primero conociendo su solubilidad y después separarlo por técnicas cromatográficas, todo ésto, acompañado de los bioensayos de actividad hipoglucemiante.

Por criterio de estandarización se utilizó el método del análisis de varianza para el tratamiento estadístico de los bioensayos. Este análisis permite comprobar diferencias significativas entre las medias de dos muestras; así como de muchas, y en nuestro caso, tuvimos estos dos tipos de problemas. Un método alternativo para el análisis de dos muestras es la distribución de Student.

En todos los casos, trabajamos con límites de confianza del 95% (que es el permitido para datos de experimentación biológica); haciendo notar, que en la mayoría de nuestros resultados donde había actividad hipoglucemiante la hipótesis nula se rechazó por un amplio margen de diferencia entre el coeficiente de variación  $F(s)$  y el coeficiente de tablas  $F(0.05)$ .

Cuando se determinó el efecto que tenía el residuo ciruposo B sobre los ratones experimentales, se observó que este residuo provocaba un efecto hiperglucemiante, esto se debe a que esta parte separada del extracto inicial seguramente presentaba alta concentración de glucosa libre, provocando con

ésto, lecturas elevadas del carbohidrato.

Respecto al aislamiento, nuestro compuesto es soluble en disolventes polares; esta característica la empleamos para darle cierta purificación al extracto activo mediante el fraccionamiento con disolventes antes de someterlo a las separaciones cromatográficas, también en las cromatografías, se usaron mezclas de disolventes polares. Al final del proceso de aislamiento obtuvimos un rendimiento del 0.0016% (50 mg) que aunque es relativamente bajo, fue suficiente para el estudio espectroscópico.

En lo referente al espectro ultravioleta, el compuesto presentó un máximo de absorción a 292 nm, ésto se debe a la influencia de los grupos -OH y R-O-R, ya que el rango de absorción para compuestos alifáticos cíclicos y acíclicos insaturados es de 200 a 215 nm, y los grupos antes mencionados tienden a aumentar el rango de absorción (32).

En el espectro de resonancia magnética nuclear, se observa una señal a 0.9 que corresponde a  $6H^+$  de dos grupos metilo, la señal de 3.3 corresponde a los protones vecinos del grupo eter (R-O-R), y el multiplete de 3.5 a los protones de HC-OH; cabe hacer notar que en estos dos casos la señal se desplaza a campos bajos, por la presencia del oxígeno. El multiplete comprendido entre 0.75 a 1.25 se debe a señales de grupos metileno.

Para establecer la probable estructura química, al compuesto se le determinó su espectro de masas, y su mapa de fragmentación coincide con los datos obtenidos por sus espectros de IR, UV y PMNR.

El mecanismo de acción de los hipoglucemiantes conocidos sigue dos vías posibles: el de la insulina que hace posi

ble la utilización de la glucosa por las células blanco de esta hormona; y el de los hipoglucemiantes bucales que estimulan la insulino-secreción endógena. No se puede afirmar que el principio activo siga alguno de estos dos mecanismos posibles, puesto que se trabajó con ratones diabético-inducidos por medio de aloxana y durante los bioensayos no se determinó histopatológicamente la magnitud de la necrosis selectiva sobre las células beta del páncreas de los ratones.

Actualmente se trabaja en el laboratorio, sobre la síntesis del compuesto, además en la formación de derivados que confirmen la estructura propuesta; por otra parte, también se trabaja en el estudio farmacológico de este hipoglucemiente para poder determinar su futura aplicación.

## CONCLUSION

La diabetes mellitus es un serio problema de salud pública, causada por una deficiencia absoluta o relativa de insulina. El diagnóstico de esta enfermedad se confirma cuando se establece la presencia de una elevación patológica de la concentración de glucosa en la sangre. La terapéutica de esta enfermedad varía según la gravedad del transtorno metabólico.

De la planta *Cecropia obtusifolia* se aisló un compuesto que posee actividad hipoglucemiante, esta sustancia podría servir como alternativa en el tratamiento de la diabetes; sin embargo, aun se debe hacer mucha investigación con este compuesto, sobre todo, a nivel farmacológico, es decir desde su introducción en un organismo vivo, hasta su eliminación; determinando su mejor vía de administración, biodisponibilidad, distribución, mecanismo de acción, vida media y vías de eliminación, así como las  $DE_{50}$  y  $DL_{50}$  e índice terapéutico.

Debe tenerse claro que el compuesto aislado no puede compararse en su acción terapéutica con la insulina, tampoco con los hipoglucemiantes orales por las razones antes expuestas. Además, actualmente la insulina y la dieta representan las dos formas más importantes de tratamiento. Ciertamente, el control de muchos enfermos tampoco sería tan bueno sin el coadyubante que representa otro tipo de hipoglucemiantes, uno de ellos podría ser nuestro compuesto, ya que la demanda de insulina y de los hipoglucemiantes bucales no alcanza a cubrir los casos de diabetes en nuestro país.

Por último, es necesario plantear que el uso de las

plantas medicinales lleva beneficios terapéuticos y económicos implícitos. Actualmente, para no depender de la importación de productos en formas dosificadas comerciales, se puede fomentar el interés para el estudio químico-farmacológico de las plantas medicinales; de esta manera, la industria farmacéutica nacional obtendría sus propias materias primas para elaborar sus medicamentos.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALVIN, E.L. (1981). Bioestadística. Sexta impresión. Compañía Editorial Continental. México, D.F. Pp. 75-86.
2. ANONIMO (SPP). (1985). Información estadística sector salud y seguridad social. Vol. 3. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, D.F.
3. BLOODWORTH, J.M.B. (1973). Patología endócrina. El Manual Moderno, S.A. México, D.F. Pp. 248-337.
4. CAÑADEL, V.J.P.M. (1973). Libro de la diabetes. Ed. Rocas. Barcelona, España. Pp. 21-39.
5. CHAIN, S.J., TKEIMPI, P. and STEINER, D.F. (1976). Cell-Free synthesis of rat pre-proinsulins: Characterization and partial aminoacid sequence determination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 73: 1964-1968.
6. DIAZ, J.L. (1976). Indice y sinonimia de las plantas medicinales de México. Monografías Científicas I. IMEPLAM. México.
7. DIAZ, J.L. (1976). Usos de las plantas medicinales de México. Monografías Científicas II. IMEPLAM. México, D.F. Pp. 29, 145, 210, 235, 246, 269.
8. FONT-QUER. (1980). Plantas medicinales: El Dioscórides Renovado. Sexta edición. Editorial Labor. Madrid, España. Pp. 397, 758.
9. FREJAVILLE, J.P., BURDEN, R. (1979). Toxicología Clínica y Analítica. Editorial JIMS. Barcelona, España. Pp.370.

10. GARCIA, G.M. (1968). Manual de Botánica Medicinal. E.G.M. Guadalajara, Jalisco. México. Pp. 11,31,37,63,83.
11. GOEDDÉL, P.V.; BOLIVAR, F. et al. (1979). Expression in *Escherichia coli* of chemically synthesized genes for human insulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 76 Pp. 106-110.
12. GOMEZ, P.A. (1966). Estudios Botánicos en la región de Misantla, Veracruz. Ediciones del Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables, A.C. México, D.F. Pp. 132,134
13. GOODMAN, A.S.; GOODMAN, L.S. y GILMAN, A. (1982). Las bases farmacológicas de la terapéutica. Sexta edición. Editorial Médica Panamericana. México, D.F. Pp. 1459-1480.
14. GUYTON, A.C. (1977). Tratado de fisiología médica. Quinta edición. Edit. Interamericana. México, D.F.
15. HARRISON, et al. (1979). Medicina interna. Quinta edición. La Prensa Médica Mexicana. México, D.F. Pp. 274-292.
16. HODGKIN, D.C. and MERCOLA, D. (1972). The secondary and tertiary structure of insulin. In Endocrine Pancreas. Endocrinology Handbook of Physiology. Editors Steiner, D.F. and Freinkel, N. American Physiological Society Washington, D.C. USA. Vol. I. Sect. 7 Pp. 139-157.
17. JOSLIN, E.P. (1979). Definición, diagnóstico, clasificación, sintomatología y pronóstico de la Diabetes. Manual del Módulo de Diabetes. Carrera de Medicina. ENEP Iztacala, UNAM. México, D.F. Pp. 173-195.

18. KATSOYANNIS, P.G. et al. (1963). Insulin peptides IX: the synthesis of the A-chain of insulin and its combination with natural B-chain to generate insulin activity. *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 85. Pp. 2836-2865.
19. KURUP, P.N. (1977). La ciencia de la vida. *Salud Mundial*. Nov.-1977. Pp. 8-14.
20. LATARJET, M. y RUIZ, L.A. (1983). Anatomía Humana. Edit. Médica Panamericana. Tomo II. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1574-1586.
21. LEHNINGER, A.L. (1979). Bioquímica: Las bases moleculares de la estructura y función celular. Segunda edición. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España. Pp. 828-831.
22. MEHNERT, F. (1977). Enfermedades del metabolismo. Editorial Salvat. Madrid, España. Pp. 158-289.
23. MEYERS, F.H.; JAWETZ, F. y GOLFIEN, A. (1977). Manual de Farmacología Clínica. El Manual Moderno, S.A. México, D.F. Pp. 424-440.
24. MILLER, M.A. y LEAVELL, L.C. (1979). Manual de Anatomía y Fisiología. Segunda edición. La Prensa Médica Mexicana. México, D.F. Pp. 555-557.
25. PENICHE, F.M. (1979). Diabetes mellitus. *Semana Médica de México*. Vol. XLVI, Núm. (6) 1220, Pp. 125-129.
26. PENNINGTON, T.D. y SARUKHAN, J. (1968). Arboles Tropicales de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, S.A.G. México, D.F. Pp. 126-127.
27. PEREZ, G.R.M. et al. (1984). A study of hypoglycemic effect of some mexican plants. *J. Ethnopharm.* 12:253-262.

28. PEREZ, T.R. (1975). Patología molecular subcelular y celular. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F. Pp. 143-149.
29. PLUMER, D.T. (1981). Introducción a la Bioquímica Práctica. McGraw-Hill Co. Bogotá, Colombia. Pp. 175-176.
- ✓ 30. RODRIGUEZ, G.H.; PEREZ, G.C. et al. (1975). Inducción de diabetes en ratón por medio de aloxana. *Acta médica*. Vol. XI. No. 41. Pp. 33-36.
31. SANJER, F. (1960). Chemistry of insulin. *Brit. Med. Bull.* Vol. 16. Pp. 183-188.
32. SOCRATES, G. (1980). Infrared characteristic group frequencies. Ed. John Wiley and Sons. Chichester England. Pp. 27-37, 45-46, 49, 91-96.
33. SOKAL, R.R. y ROHLF, J.F. (1979). Biometría: Principios y métodos estadísticos en investigación biológica. H. Blume Ediciones. Madrid, España. Pp. 145-280.
34. STANDLEY, P. (1958). Trees and Shrubs of Mexico. Smithsonian Press Contributions from the United States National Herbarium. Vol. 23 Part. 2. Washington, D.C. USA. Pp. 202, 216-218.
35. STANLEY, L.R. y ANGEL, A. (1978). Patología Básica. Segunda edición. Ed. Interamericana. México, D.F. Pp. 302-306.
36. STEINER, D.F. et al. (1972). The biosynthesis of insulin. In Endocrine Pancreas. Endocrinology Handbook of Physiology. Editors Steiner, D.F. and Freinkel, N. American Physiological Society, Washington, D.C., USA. Vol. I. Sect. 7. Pp. 175-198.

37. STEINER, D.F.; DUGUID, J.D. et al. (1979). New aspects of insulin biosynthesis. Editor Baba S. Kunekot and Yanaihara, N. Excerpta Medica. Amsterdam, Holanda. Pp. 9-19.
38. STOCKER, W. (1966). Aportación de la historia de la Diabetes mellitus. Edit. Therapiewoche, Buenos Aires, Argentina. Pp. 16, 34, 1077.