



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CAMPUS "IZTACALA"

"ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE *Tournefortia*
hirsutissima."

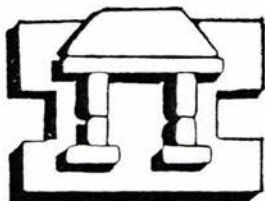
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A

MARIA DE LOS ANGELES GABRIEL SUAREZ



IZTACALA

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. DAVID SEGURA COBOS

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



U.N.A.M. CAMPUS

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

El presente trabajo esta dedicado a mis padres **Eugenia Suárez Rivera** y **Leopoldo Gabriel Ríos**, por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de la carrera, por todos sus desvelos y sacrificios, pero sobre todo por ser las personas que más amo y respeto, que además me motivaron a concluir mi carrera profesional.

AMIS HERMANOS

Madiel, Pedro y Edgar que me apoyaron, y siempre serán mi ejemplo a seguir, por lo que realmente me siento orgullosa de ellos, a mis hermanas **Carina** y **Rosario** por todo lo que hemos compartido y por que las considero mis dos grandes amigas y me enorgullece ser su hermana.

AMIS AMIGOS

Israel y Maria Elena, quienes me acompañaron a lo largo de mi carrera y me brindaron su amistad sincera, estando conmigo cuando más los necesite.

AGRADECIMIENTOS

Al M. En C. **David Segura Cobos** por la dirección y asesoría del presente trabajo, así como sus valiosos comentarios y sugerencias que sirvieron para enriquecer este trabajo.

A los revisores de Tesis Dr. **Sergio González Moreno**, Dr. **Gustavo Valencia del Toro**, Biol. **José Luis Muñoz López** y M. En C. **María del Rocío Bautista Pérez**. Por las revisiones y sugerencias a este trabajo.

A la QFB, **Beatriz Vázquez** por todos los comentarios y sugerencias a este trabajo.

CONTENIDO

IZT.

1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1 Fármacos hipoglucemiantes	8
1.2 Medicina tradicional	11
1.3 Biología de <i>Tournefortia hirsutissima</i>	12
1.4 Taxonomía	13
1.5 Sinónimos científicos	14
1.6 Distribución	14
1.7 Usos medicinales	14
1.8 Descripción del área de estudio	15
2.- ANTECEDENTES	16
3.- JUSTIFICACIÓN	16
4.- OBJETIVOS	16
5.- MATERIAL Y MÉTODOS	17
5.1 Adquisición de la planta	17
5.2 Identificación de la planta	17
5.3 Material biológico	17
5.4 Elaboración del extracto acuoso y metanólico	17
5.5 Fraccionamiento químico del extracto	17
5.6 Prueba de tolerancia a la glucosa	18
5.7 Determinación de la glucosa sanguínea	18
6. PRUEBAS FITOQUÍMICAS	19
7. - RESULTADOS	20
8. - DISCUSIÓN	34
9. - CONCLUSIÓN	39
10. – BIBLIOGRAFIA	40

RESUMEN

El propósito del presente trabajo fue comprobar si el arbusto *Tournefortia hirsutissima* tiene actividad hipoglucemiante en ratas normales con una hiperglucemia temporal (2 g/kg de glucosa, vía subcutánea) y en ratas diabéticas inducidas con aloxana (120 y 175 mg/kg), vía intraperitoneal, por tres días. Se realizó la extracción con agua de las hojas frescas del arbusto; se separaron del extracto acuoso las sustancias solubles en metanol y en cloroformo. A las ratas se les administraron los extractos en dosis de 100 y 200 mg/kg. Se utilizaron ratas Wistar machos de 200 a 250 g y se realizó una curva de tolerancia a la glucosa, es decir, se les dio una carga de glucosa y se registró con un glucómetro, el tiempo en que alcanzaron el pico máximo de hiperglucemia en sangre, el cual observamos fue a los 15 minutos, con un incremento del 200 % ya que al inicio se encontraban en ayuno con una glucosa en sangre de 50 mg/dl y después de la aplicación de glucosa alcanzaron una concentración de glucosa en sangre de 160 mg/dl. Al probar el extracto acuoso con un pretratamiento de 20 minutos antes de dar la carga de glucosa, observamos que dicho extracto redujo la glucemia en un 19 %, es decir, el control presentó una glucosa en sangre de 130 mg/dl mientras que el grupo tratado con el extracto lo mantuvo en 100 mg/dl. Posteriormente, se aumentó el periodo de pretratamiento con el extracto acuoso y metanólico a 90 min, antes de dar la carga de glucosa, y se registró una reducción del pico de hiperglucemia del 58% y 50%, respectivamente. El extracto clorofórmico no mostró efecto hipoglucemiante. Las ratas tratadas con aloxana (175 mg/kg) perdieron un 30% de su peso y mostraron los signos clásicos de la diabetes: poliuria, polifagia y polidipsia. En las ratas diabéticas por inducción con aloxana (120 mg/kg) los extractos acuoso (200 mg/kg) y metanólico (100 mg/kg) redujeron la hiperglucemia a las 2 h en comparación con ratas tratadas con agua en un 66% y 39%, respectivamente. Así podemos decir que las hojas de *T. hirsutissima* contienen compuestos con actividad hipoglucemiante y estos resultados apoyan el uso medicinal que se le da a este arbusto.

INTRODUCCION.

PÁNCREAS

El páncreas se encuentra compuesto principalmente por dos tipos de tejidos, los acinos cuya función es secretar jugos digestivos que posteriormente se transformarán en el intestino, y los Islotes de Langerhans que a través de su secreción endócrina liberan insulina y glucagón hacia la sangre. Las células alfa, beta y delta de los islotes de Langerhans secretan glucagón, insulina y somatostatina (Guyton y Hall, 1997), respectivamente, cuyas funciones se analizarán a continuación .

INSULINA

La insulina es una hormona de origen proteínico que ejerce determinados efectos sobre el transporte de los metabolitos. Por ejemplo, a nivel muscular, tejido adiposo y el corazón, esta hormona aumenta la permeabilidad de la membrana para facilitar el ingreso de glucosa, aminoácidos, nucleósidos y fosfato a las células, desempeñando una reacción de transporte importante. No todos los tejidos responden sensiblemente a la presencia de insulina para que ésta desempeñe una función de "transporte" como sucede en el músculo, sino que en el hígado y tejidos como el nervioso las membranas son permeables al ingreso de glucosa. Sin embargo, durante la actividad física no se hace necesaria la presencia de insulina para permitir el ingreso de los nutrientes a través de la membrana en los tejidos (Guyton y Hall, 1997).

Las principales funciones de la insulina son:

- a) Aumentar el transporte de glucosa al interior celular produciendo una disminución de la concentración de glucosa en sangre.
- b) Promover la glucogenogénesis.
- c) Aumentar el trabajo de algunas enzimas como la glucogenosintetasa, por lo que disminuye a su vez la glucogenolisis.
- d) Promover la inhibición de la lipasa, sensible a hormona presente en el adiposito, evitando la hidrólisis de los triglicéridos almacenados.

- e) Aumentar el almacenamiento de triglicéridos, en el tejido adiposo.
- f) Disminuir la concentración de ácidos grasos libres en el plasma.
- g) Promover la activación lipoproteínica de la lipasa presente en la membrana de los capilares.
- h) Facilitar el transporte de ácidos grasos a los tejidos, especialmente el adiposo.
- i) Promover el transporte de glucosa al adiposito para sintetizar a partir de ella, ácidos grasos.

La insulina también tiene efecto sobre el metabolismo de las proteínas. Por lo que la insulina al igual que la glucosa y los ácidos grasos, presenta las funciones adicionales

- j) Aumentar el transporte de aminoácidos al interior de la célula.
- k) Disminuir la neoglucogénesis.
- l) Aumentar la actividad ribosomal promoviendo la síntesis de nuevas proteínas.
- m) Aumentar la transcripción del ADN celular, por lo que todos estos mecanismos, disminuyen el catabolismo de las proteínas.

Aparentemente, la insulina y la hormona secretora de tiroxina (STH o tirotropina) actúan conjuntamente para promover el crecimiento; esto quizá podría deberse a que cada una de ellas permite la captación de diferentes aminoácidos necesarios para el crecimiento (Guyton y Hall, 1997).

CONTROL DE LA SECRECIÓN DE INSULINA

Cuando las concentraciones normales de glucosa en sangre (70-100 mg/dl) se incrementan de 2 a 3 veces de lo normal (glucemia), la secreción de insulina aumenta 10 veces en un lapso de tres a cinco minutos. Luego de 15 minutos aproximadamente, la secreción de insulina aumenta aún más, no solamente por la descarga de insulina preformada, sino también debido a una nueva hormona sintetizada por algún sistema enzimático. Así como la insulina aumenta con gran rapidez frente al incremento de la

glucemia, de igual manera desciende rápidamente cuando los niveles de glucosa en sangre retornan a sus valores normales (Guyton y Hall, 1997).

Los aminoácidos, leucina, arginina y mezclas de aminoácidos también ejercen estimulación sobre la secreción de insulina, pero de manera muy diferente a como lo hace la glucosa. Sin embargo, cuando se administran conjuntamente aminoácidos y glucosa, puede incrementarse aún más la secreción de la hormona.

Existen otros factores que estimulan la secreción de insulina, tales como las hormonas gastrointestinales (gastrina, secretina, colecistocinina, péptido gástrico inhibidor), ya que mientras se van ingiriendo los alimentos, estas hormonas producen una descarga "anticipatoria" de insulina a manera de preparación para los nutrientes que van a ser absorbidos (Guyton y Hall, 1997).

GLUCAGÓN

Hormona polipeptídica del páncreas, secretada a la sangre por las células alfa de los islotes de Langerhans, constituye el principal mecanismo regulador de glucosa en sangre. Es decir, cuando los niveles de esta aumentan, se produce una inhibición en la secreción de glucagón y un aumento en la secreción de insulina, mientras que cuando la glucosa en sangre (glucemia) disminuye aumenta la secreción de glucagón y disminuye la de insulina respectivamente.

Las funciones que lleva a cabo el glucagón son:

- 1) Promueven la glucogenólisis y la neoglucogénesis a partir de aminoácidos en el hígado, ya que estos dos procesos generan un aumento de los niveles de glucosa disponibles para el organismo.
- 2) Generan estimulación de la lipasa sensible a hormona por lo que,
 - 2.1) Promueve el desdoblamiento de triglicéridos e,
 - 2.2) Incremento de la concentración de ácidos grasos en la sangre.

El glucagón produce también un aumento en el catabolismo nitrogenado, promoviendo así un incremento en la pérdida de urea, creatinina y ácido úrico por la orina (Hartman y col., 1996; Guyton y Hall, 1997).

REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA

A partir de lo expuesto anteriormente, se puede decir, entonces, que el hígado constituye un "sistema amortiguador de la glucemia" ya que al aumentar los niveles de glucosa en sangre, se almacena inmediatamente por acción de la insulina, por lo que la glucemia disminuye. Posteriormente cuando los niveles de glucosa y de insulina se encuentran ya disminuidos, se produce un aumento en la liberación de glucosa hacia la sangre desde el hígado por la acción glucogenolítica del glucagón por lo que la glucemia retorna a sus valores normales (Hartman y col., 1996).

Por otro lado, existen otras hormonas que pueden ser secretadas para contrarrestar el efecto de la disminución de glucosa en sangre (hipoglucemia) como, por ejemplo, la adrenalina secretada por la médula suprarrenal, que promueve la glucogenólisis hepática incrementando los niveles de glucosa en sangre. Si la hipoglucemia se manifiesta en forma prolongada aumenta la secreción de STH y cortisol disminuyendo la utilización de glucosa por la mayoría de las células del organismo (Hartman y col., 1996; Guyton y Hall, 1997).

Los niveles de glucosa deben mantenerse constantes ya que la disminución de la glucemia afectaría particularmente al cerebro, la retina y el epitelio germinativo ya que éstos utilizan la glucosa como nutriente para abastecerse energéticamente. Por lo contrario, si los niveles de glucosa en la sangre fueran muy altos (hiperglucemia), se produciría un incremento en la deshidratación celular por el efecto osmótico de la glucosa en la sangre; un aumento en la pérdida de glucosa por la orina y a consecuencia de ello una disminución de los líquidos y electrolitos en el organismo por un mecanismo de diuresis osmótica provocada a nivel del riñón (Hartman y col., 1996; Guyton y Hall, 1997).

SOMATOSTATINA

La somatostatina también es descrita como una de las hormonas del hipotálamo que se desempeña como factor inhibidor de STH. Las células delta de los islotes de Langerhans secretan esta hormona, promoviendo:

- inhibición de la secreción de insulina y glucagón,
- disminución de la motilidad del estómago, duodeno y vesícula biliar,
- disminución de la secreción y absorción a nivel gastrointestinal.

Por lo tanto, la somatostatina genera una disminución en la asimilación de los alimentos y disminución en la secreción de insulina y glucagón para evitar la utilización de los nutrientes absorbidos por los tejidos y su rápido agotamiento, por lo que estos permanecen disponibles por un período más prolongado (Hartman y col., 1996).

DIABETES.

El término Diabetes Mellitus (DM) describe un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizado por una elevación persistente de los niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia) junto a alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas que ocurren como consecuencia de alteraciones de la secreción y/o en la acción de la insulina (Alberti y Zimmet, 1998).

EPIDEMIOLOGÍA

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica que afecta a un gran número de personas, representando un problema personal y de salud pública de enormes proporciones. La diabetes primaria que es la más frecuente e importante (Diabetes Mellitus Insulino Dependiente (DMID) y la Diabetes Mellitus no insulino Dependiente (DMNID) debe distinguirse de la Diabetes secundaria que comprende formas de hiperglucemia asociadas a causas identificables como son: inflamación del páncreas, cirugías, tumores, ciertos fármacos, sobre carga de hierro (hemocromatosis) y algunos trastornos genéticos. (Cotran y col, 1995).

DIABETES INSULINO DEPENDIENTE

Existe una carencia de insulina, por una reducción de las células beta, que implica tres mecanismos interrelacionados los cuales son: **Susceptibilidad genética** debido a la alteración de la regulación inmunitaria, que predispone a ciertos individuos al desarrollo de auto inmunidad frente a los antígenos de las células beta. Es decir, reside entre los genes que codifican los antígenos de la clase II, en la región del cromosoma 6 que alberga el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-D) que activan o amplifican las reacciones autoinmunitarias frente a las células beta. **Autoinmunidad**; trastorno primario de la inmunidad que conduce a reconocer a los antígenos normales y a una cascada de agresiones que provocan la destrucción de las células beta. **Factores ambientales**: Se sospecha que los virus son indicadores de esta enfermedad, dichas infecciones son (sarampión, rubéola virus coxsackie B y mononucleosis infecciosa) varias toxinas químicas, estreptozotocina, aloxana pentamidina (Foster, 1998).

DIABETES NO INSULINODEPENDIENTE

No ligada a ningún haplotipo del sistema HLA. Se caracteriza por un **Déficit de insulina** la secreción de insulina es normal en las primeras fases, posteriormente se produce una hiperglucemia crónica, conocida como toxicidad de la glucosa, y se debe en parte a la disminución de los transportadores GLUT-2, que se va complicando por la obesidad. **Resistencia a la insulina** Disminución del número de receptores de insulina, y existen defectos posreceptor con alteraciones en el sistema de señales, por una disminución de la síntesis de GLUT-4. (Foster, 1998).

En el mundo occidental se estima una prevalencia de DM conocida de entre el 1-3% de la población; estimándose que los casos de DM sin diagnosticar supone un 2-4% de la población, mientras que la de la DM2 se estima en un 2-6%. La prevalencia de DM1 se estima en un 0,2% de la población. De todas formas, parece ser difícil establecer de forma precisa la prevalencia de la DM, al haberse utilizado muy numerosos criterios para su diagnóstico, alguno de los cuales ya no se admiten (Foster, 1998).

La DM aumenta significativamente al aumentar la edad de la población; así se estima que alcanza el 10-15% en la población mayor de 65 años, y el 20% si se considera sólo a los mayores de 80 años.

A medida que se prolonga la evolución de la enfermedad en numerosos individuos, se produce una disminución en la producción de insulina que requiere la administración de suplementos de insulina para conseguir un adecuado control de la glucemia, especialmente durante situaciones de estrés o enfermedad (Evans y Krentz, 1999). De manera que se estima que hasta un 50% de los pacientes con DM2, de forma eventual, precisan del tratamiento con insulina para el control de la hiperglucemia (Evans y Krentz, 1999).

La utilización de insulina en pacientes con DM2 ha sido un tema controvertido al haberse relacionado la hiperinsulinemia, con la enfermedad aterosclerótica; así, las observaciones de algunos estudios epidemiológicos sugieren la existencia de un mayor riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular entre los pacientes con DM que se relaciona con la presencia de elevados niveles de insulinemia (Rosenstock, 2001; Haffner, 1999). Sin embargo, no se dispone de ninguna evidencia que en forma directa relacione el tratamiento con insulina con el desarrollo de ateroma o hipertensión (Rosenstock, 2001, Osei, 1999); adicionalmente, tampoco se ha puesto de manifiesto la existencia de un mayor riesgo de sufrir infarto de miocardio entre los pacientes tratados con insulina.

El conocimiento del perfil de la glucemia puede ser útil para establecer el régimen específico de insulina. En principio, debe administrarse al menos dos veces diarias para mantener adecuados los niveles de insulina a lo largo del día; algunos pacientes precisan múltiples (tres o más) inyecciones diarias de insulina para conseguir un adecuado control de la glucemia (Rosenstock, 2001). No existe ninguna pauta estandarizada para la administración de insulina en sujetos con DM; así, su utilización varía entre los profesionales y, si el médico es el mismo, varía entre los pacientes (Alberti y Zimmet, 1998).

Los diferentes preparados de insulina están formulados para proporcionar diferentes tiempos de acción. La de menor acción es la insulina regular, administrada por vía subcutánea la cual inicia su acción a los 30 min, alcanzándose las concentraciones máximas en 1-3 horas, siendo la duración total de la acción de 1-3

horas. Las insulinas de acción intermedia (NPH o lenta) inician su acción a las 1-2,5 horas, alcanzándose concentraciones máximas a las 4-12 horas, siendo la duración del efecto de 18 a 24 horas (Foster, 1998).

1.1 FÁRMACOS HIPOGLUCÉMICOS ORALES

SULFONILUREAS

Antidiabéticos orales, actúan fundamentalmente en la estimulación de la célula beta para la liberación de la insulina, estos fármacos aumentan el número de receptores de insulina en los tejidos y la utilización de glucosa estimulado por la insulina. Las sulfonilureas sólo son eficaces cuando hay secreción endógena de insulina. En forma aguda, aumentan la secreción de células beta, cerrando los canales de potasio y estimulando a demás la entrada de calcio, reduciendo así los índices acelerados de producción hepática de glucosa en la DM II.

MECANISMO DE ACCIÓN

Las sulfonilureas causan hipoglucemia al estimular la liberación de insulina a partir de las células pancreáticas beta, a través de la reducción de la glucosa plasmática, lo cual permite que la insulina circulante tenga efectos más pronunciados sobre sus tejidos blancos también pueden estimular la liberación de somatostatina y pueden disminuir un poco la secreción de glucagón. El efecto inicial de estos fármacos consiste en aumentar la liberación de insulina y reducir la glucosa plasmática. (Hartman y col, 1996). La fórmula general de los hipoglucemiantes orales se presentan a continuación.

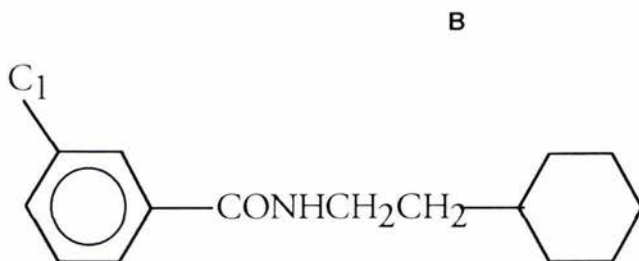
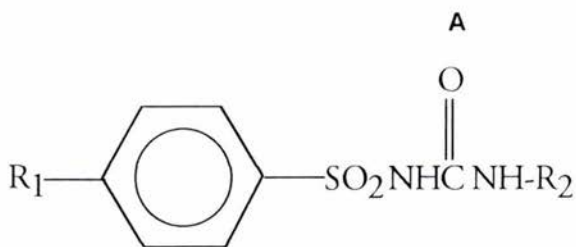


Figura 1. Fórmula general de las A) sulfonilureas y B) Estructura de la glibenclamida

IZT.

Las funciones y derivados de los antidiabéticos se resumen en la siguiente tabla

Aumentan la secreción de la insulina	Sulfonilureas	Glibenclamida, Glipzida, Glimepirida Ciglitazona
	Derivados del ácido benzoico	Repaglinida
Mejoran la acción periférica de la insulina	Biguanidas	Metformina, Buformina
	Tiazolidindionas	Trolitazona, Rosiglitazona, Pioglitazona
Retrasan la absorción de poli y disacáridos	Inhibidores de las alfas	Acarbosa, Miglitol
	Glicosidasas	

Tabla 1. Antidiabéticos Orales.

Los efectos secundarios son poco frecuentes, pero los predominantes son los gastrointestinales (náuseas y vómito agranulosis, anemia aplásica y hemolítica) , dermatológicos (púrpura y prurito); otros efectos secundarios de las sulfonilureas incluyen reacciones hematológicas (leucopenia, trombocitopenia, anemia hemolítica). Se ha identificado ictericia colestásica más a menudo con el uso de la clorpropamida, también pueden inducir hiponatremia al potenciar los efectos de la hormona antidiurética sobre los conductos colectores renales (Cotran y col. 1995).

BIGUANIDAS

Son antihiper glucemiante no hipoglucemiante, no causan liberación de insulina, a partir del páncreas ni producen hipoglucemia, incluso a dosis elevadas, su mecanismo de acción se da, al parecer, en un aumento del efecto de la insulina en los tejidos periféricos, así como la reducción de la producción hepática de glucosa debido a la inhibición de la gluconeogénesis. Los efectos adversos que provocan son molestias abdominales, diarreas, náusea, sabor metálico y anorexia.

CIGLITAZONA, PIOGLITAZONA

No causan hipoglucemia en personas normales o diabéticas, reducen las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina y lípidos después de la administración y reduce la resistencia a la insulina en hígado, músculo esquelético y tejido adiposo, al incrementar el número de transportadores de la glucosa (Hartman y col, 1996).

INHIBIDORES DE LA ALFA GLICOSIDASA

La acarbosa, reduce la absorción intestinal de almidón, dextrina y disacáridos, al inhibir el efecto de la α -glucosidasa, la inhibición de esta enzima torna lenta la absorción de los carbohidratos, el aumento posprandial de la glucosa plasmática disminuye tanto en sujetos normales como en diabéticos. La acarbosa origina mala absorción, flatulencia y meteorismo abdominal.

INSULINA

La insulina disminuye el nivel de glucosa sanguínea, aumentando la captación de glucosa y el metabolismo, por los tejidos periféricos (músculo y tejido adiposo) y suprimiendo la producción hepática de glucosa. En el siguiente cuadro se resumen los tipos de Insulina así como la duración del efecto.

Tipo de insulina	Inicio del efecto (h)	Efecto máximo (h)	Duración del efecto (h)
Acción corta (regular)	1/2	2-5	5-8
Acción intermedia (lenta)	1-3	6-12	16-24
Acción prolongada (ultra lenta)	4-6	8-20	24-28
Mezclas (70/30,50/50)	1/2	7-12	16-24

Tabla 2. El cuadro nos muestra las mezclas, los tipos de insulina y la duración del efecto.

La principal complicación de la insulina es la hipoglucemia. Las consecuencias de la hipoglucemia pueden ser mayores en las personas de edad avanzada. También pueden presentarse lipodistrofias, formación de anticuerpos e inclusive resistencia a la insulina y alergias (Cotran y col. 1995)

1.2 PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA EN LA MEDICINA TRADICIONAL.

Actualmente la medicina tradicional está teniendo un gran auge debido principalmente a que las plantas medicinales son aplicadas con éxito en la vida diaria, ya sea en forma de infusión, tintura, extracto, que son usadas en la terapéutica en base a determinadas sustancias con efectos benéficos contenidas en ellas (Aguilar y col, 1994)

Las plantas medicinales continúan sirviendo como agentes terapéuticos tanto en la medicina moderna como en la tradicional, las dudas acerca de la eficacia y seguridad de agentes hipoglucemiantes orales han promovido la búsqueda de fármacos más eficaces y seguros en el tratamiento de la DM.

Una gran variedad de remedios tradicionales a base de hiervas, han sido utilizados para el tratamiento de la Diabetes Mellitus, y la medicina tradicional representa nuevos caminos para tener medicamentos hipoglucemiantes alternativos (Roman Ramos y col, 1991, 1992, 1995; Alarcón-Aguilar y col, 1998).

Los recursos terapéuticos empleados por la medicina tradicional herbolaria constituyen una alternativa viable para el descubrimiento de nuevos medicamentos hipoglucemiantes. Existen diversas plantas utilizadas en el control de la Diabetes Mellitus, como son: *Opuntia streptacantha* (nopal), *Ocimum sanctum*, *Momordica charantia*, *Lepechinia cualescens* (salvia), *Musa sapientum* (banana), *Medicago sativa* (alfalfa), *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Psacalium peltatum*, *Rhizophora mangle* y *Tournefortia hirsutissima* (nigüilla) esta última con pocos estudios sobre el control de la diabetes así como de su composición química.

1.3 BIOLOGÍA DE *Tournefortia hirsutissima*, DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Tournefortia hirsutissima pertenece a la familia de las Boragináceas; es un arbusto trepador hirsuto, de hojas lanceoladas oblongas a elípticas u ovaladas, de 8-15 cm, acuminadas, ásperas de arriba, flores monopétalas, blancas con el tubo de 4-5 mm, en inflorescencia escorpoidea, fruto drupáceo con 4 nuececillas (Martínez, 1979). En la figura 2, se presenta una imagen del arbusto.



Figura 2. *Tournefortia hirsutissima*

1.4 Taxonomía de *Tournefortia hirsutissima*.

De acuerdo con Martínez (1979) y Lawrence (1951) la taxonomía de *T. hirsutissima* es la siguiente;

Reino:	Plantae
División:	Embriofita
Subdivisión:	Angiosperma
Clase:	Dicotyledoneae
Orden:	Tubiflorae
Suborden:	Boragineae
Familia:	Boraginaceae
Género:	<i>Tournefortia</i>
Especie:	<i>hirsutissima</i>

1.5 SINÓNIMOS CIENTÍFICOS.

Los sinónimos científicos para *T. hirsutissima* que existen son los siguientes (Wunderlin y Hansen, 2000):

Messerschmidia chrysantha

Messerschmidia hirsutissima

Tournefortia alba

Tournefortia bilbergiana Beurl.

Tournefortia elliptica

Tournefortia schomburgkii

1.6 DISTRIBUCIÓN

En México, el arbusto de *T. hirsutissima* se localiza en Guerrero, Jalisco, Morelos, Sinaloa, S. L. Potosí, Puebla, Oaxaca, Veracruz y Estado de México

1.7 ALGUNOS USOS DE *Tournefortia hirsutissima*.

En Sinaloa se le conoce como Tatachinole y se utiliza en el tratamiento de riñón y cálculos renales; en Pahuatlán, Puebla se usa en el tratamiento de la hemorragia vaginal (Aguilar y col., 1994). En el Estado de México se le denomina Lágrimas de San Pedro y en Veracruz, especialmente en el Municipio de Naranjos-Amatlán, se le conoce como nigüilla y se usa en el control de la diabetes.

1.8 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

UBICACIÓN GEOGRÁFICA.

El Municipio de Naranjos – Amatlán, Veracruz se localiza a 21° 21´ Lat. NE, 97° 41´ Log. W a una altitud de 60 m.s.n.m con una superficie estatal total de 0.27%. Situado en la zona Norte del estado, en la región de la Huasteca, presenta un relieve montañoso que atraviesa la Sierra de Otontepec misma que no rebasa los 500 m.s.n.m . Al Municipio lo riega el río Tancochín. En la figura 3, se presenta el mapa de ubicación del área de estudio.

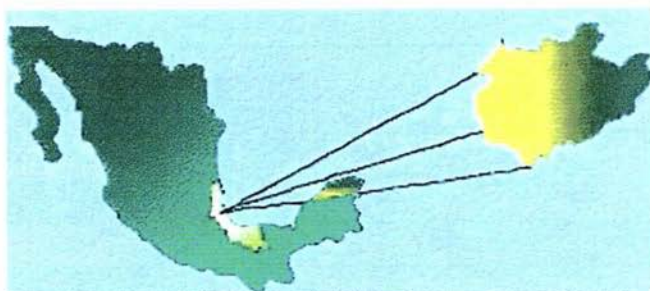


Figura 3. Área de Estudio: Municipio, Naranjos- Amatlán, Veracruz.

CLIMA

Cálido regular con una temperatura media anual de 23.5°C con lluvias abundantes en verano, principios de otoño y fuerte precipitación media anual 16.005 mm.

FLORA

El árbol dominante es el Chicozapote, Caoba y Pucte, realizándose explotaciones de caoba y chicle.

LÍMITE POLÍTICO

El Municipio de Naranjos, Veracruz colinda con los siguientes municipios: al norte con Chinampa de Gorostiza, al sur con Tancoco y Tamiahua, al este con Tamiahua y al Oeste con Tamalín, todos ellos del estado de Veracruz (INEGI,1997).

2. ANTECEDENTES

En México el grupo de Alarcón-Aguilar y col, (1998) probaron el efecto antihiper glucémico de los extractos acuosos de 24 plantas mexicanas usadas como antidiabéticas, de las cuales *Guazuma ulmifolia*, *Tournefortia hirsutissima*, *Lepechinia caulescens*, *Rhizophora mangle*, *Musa sapientum*, *Trigonella foenum graceum*, *Turnera difusa*, y *Euphorbia prostrata* disminuyeron la concentración de glucosa en sangre y/o el área bajo la curva de tolerancia a la glucosa. Entre ellas el extracto acuoso de los tallos de *T. hirsutissima* redujo el pico hiper glucémico en un 21.7% y el

área bajo la curva de tolerancia a la glucosa en un 18% a la dosis de 45 mg/kg administrado intragástricamente a conejos temporalmente hiperglucémicos. En estos experimentos se administró tolbutamida (40 mg/kg, vía oral) como fármaco hipoglucemiante control y redujo el pico de hiperglucemia en un 15.7% y el área bajo la curva de tolerancia a la glucosa en un 16.6%.

3. JUSTIFICACIÓN

Los diversos medicamentos hipoglucemiantes utilizados en la medicina moderna, suelen tener efectos colaterales nocivos como son: vómito, mareos, taquicardia, náuseas, entre otros.

Se han realizado investigaciones para encontrar fármacos hipoglucemiantes que no tengan dichos efectos, sin embargo no difieren mucho de los originales, además de ser fármacos de alto costo. Por lo que es necesario realizar la búsqueda de nuevos medicamentos con acción hipoglucemiante, y una buena alternativa son las plantas utilizadas en la medicina tradicional, tal es el caso de *Tournefortia hirsutissima* que se ha reportado a nivel empírico en algunas regiones del estado de Veracruz, para el control de la diabetes, sin embargo no existen evidencias farmacológicas experimentales que validen este uso. Razón por la cual nos planteamos el objetivo siguiente:

4. OBJETIVO.

Determinar experimentalmente si los extractos acuoso y metanólico de las hojas del arbusto *Tournefortia hirsutissima* tienen actividad hipoglucemiante en ratas normales y en ratas diabéticas inducidas con aloxana.

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1 Adquisición de la planta .

Las hojas de la *Tournefortia hirsutissima* se colectaron en el Municipio de Naranjos Amatlán, Veracruz se trajo un arbusto pequeño y se depositó en el invernadero de la FES Iztacala, UNAM.

5.2 Identificación de la planta

Se colectaron la hojas frescas en el Invernadero de la FES Iztacala. Se prensaron y secaron, para su identificación, la cual fue realizada por la Biol. Edith López Villafranco y se depositó un ejemplar en el herbario IZTA de la FES Iztacala para la colección con el número de registro 28220.

5.4 Material biológico.

Se utilizaron ratas Wistar machos, de 200-250 g de peso corporal, los cuales se mantuvieron en cautiverio bajo un régimen de dieta estándar con toma libre de agua.

5.5 Elaboración de los extractos acuoso y metanólico de las hojas frescas

- 1) Las hojas se pesaron y se licuaron con agua destilada a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- 2) El extracto se filtró y se secó en un horno a una temperatura de 70°C durante 24 horas, aproximadamente.
- 3) Se determinó el peso del extracto seco para después ser resuspendido en solución salina estéril al 0.9%.
- 4) Posteriormente, se determinó el pH del extracto acuoso y se ajustó a 7.4 y se se envasó en viales guardándose hasta el momento de ser utilizado.

5.6 Fraccionamiento químico del extracto acuoso.

Primero se preparó el extracto acuoso, para lo cual se pesaron 60 g de hojas frescas de *T. hirsutissima*, se licuaron y se agregaron 100 ml de agua bidestilada, posteriormente se filtró con papel Whatman # 1 secándose y pulverizándose el extracto acuoso. Se procedió a realizar una extracción con metanol (1:20 p/v) a temperatura ambiente del extracto acuoso seco, se filtró y de igual manera se realizó un

secado del extracto metanólico. En seguida se disolvió el extracto metanólico y se extrajo el preparado metanólico con cloroformo y se secó; posteriormente se agregó 10 ml de agua y se colocaron en viales para su posterior uso.

5.7 Prueba de tolerancia a la glucosa.

Para la prueba de tolerancia a la glucosa (Alarcón-Aguilar y col., 1998) se dio a los animales una solución de glucosa al 50% que se aplicó subcutáneamente (2 g de glucosa/kg) Se obtuvieron muestras de sangre de las venas de la cola de las ratas durante el período de ayuno y en intervalos de 15 min por 1 h después de inyectar la glucosa. Los animales de cada grupo (n=5) recibieron por vía oral:

Agua como control en el primer grupo;

Tolbutamida (40 mg/kg de peso) como fármaco de referencia para el segundo grupo;

Extracto acuoso de las hojas (en dosis de 100 y 200 mg/kg).

5.8 Determinación de la glucosa sanguínea

Las muestras de sangre se colocaron en las tiras reactivas y los niveles de glucosa sanguínea se determinaron empleando el equipo del sistema ONE TOUCH BASIC (Lifescan, Johnson & Johnson Co.). El principio del procedimiento es el siguiente La glucosa y el oxígeno reaccionan en presencia de glucosa oxidasa produciendo ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Posteriormente el peróxido de hidrógeno oxida a los colorantes, en una reacción mediada por la peroxidasa, produciendo un color azul (Marks y Dawson, 1965). La intensidad de este color es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Composición, cada cm² de la tira reactiva contienen los ingredientes reactivos en las siguientes concentraciones:

-Glucosa oxidasa	14UI
- Peroxidasa	11UI
-3-metil-2-benzotiazolinona clorhidrato de hidrazona	0.06 mg
-Ácido 3-dimetilaminobenzoico	0.12 mg

6. PRUEBAS FITOQUÍMICAS.

Prueba de Mayer (reacción genérica para reconocimiento de alcaloides).

Disolver 1.36 g de HgCl_2 en 60 mL de H_2O ; y 5 g de KI en 10 mL de H_2O ; se mezclan las dos soluciones y se aforan a 100 mL con agua destilada. Se usa sobre soluciones aciduladas con HCl o H_2SO_4 diluidos (sólo usar unas gotas).

Coloración con el reactivo de Emerson. (Reacción genérica para reconocimiento de coumarinas).

Reactivo de Emerson : Na_2CO_3 al 0.5%, 4- aminoantipirina al 0.9%, ferrocianuro de potasio al 5.4% en agua destilada.

Prueba de Salkowsky (reacción genérica para reconocimiento de esteroides).

1.2 mg de muestra del extracto acuoso seco en 1 ml de cloroformo, se ponen en contacto con 1 ml de H_2SO_4 . La reacción positiva produce coloraciones amarillas o rojas.

Prueba de Shinoda (Reacción genérica para reconocimiento de flavonoides).

Se utiliza una pequeña muestra del extracto, 1 trozo de magnesio y unas gotas de HCl concentrado. La reacción positiva produce coloraciones rojizas, rojo-azulosas o violetas en presencia de flavonas.

Prueba de Baljet (reacción genérica para reconocimiento de sesquiterpenlactonas).

En un tubo de ensaye de 4 × 50 mm o un microcrisol se coloca una gota de solución metanólica de clorhidrato de hidroxilamina 2N con una gota de solución metanólica de hidróxido de potasio. La mezcla se calienta en un micromechero por espacio de 1 a 2 minutos, se enfría, se acidula con HCl 0.5 N se añade una gota de FeCl_3 al 1%, la reacción positiva produce coloraciones violáceas. (Domínguez, 1979).

Análisis estadístico.

Los datos se expresaron como la media \pm error estándar de la media. Se aplicó una prueba de "t" de Student, para detectar diferencias estadísticas entre los grupos.

8. RESULTADOS.

Rendimiento de las hojas frescas de *Tournefortia hirsutissima*

El rendimiento de los diferentes extractos obtenidos (acuoso, metanólico y clorofórmico) de la hojas frescas de *T. hirsutissima* se muestra en la tabla 3. La fracción metanólica corresponde al 9.74% del peso de las hojas de la planta.

Extractos	Hojas	%
Fraccionamiento	50 g	100%
Acuoso	19 g	38%
Matanólico	4.87 g	9.74%
Clorofórmico	0.38 g	0.76%

Tabla 3. Rendimiento de *Tournefortia hirsutissima*, al realizar el fraccionamiento.

Pruebas fitoquímicas de las hojas frescas de *Tournefortia hirsutissima*

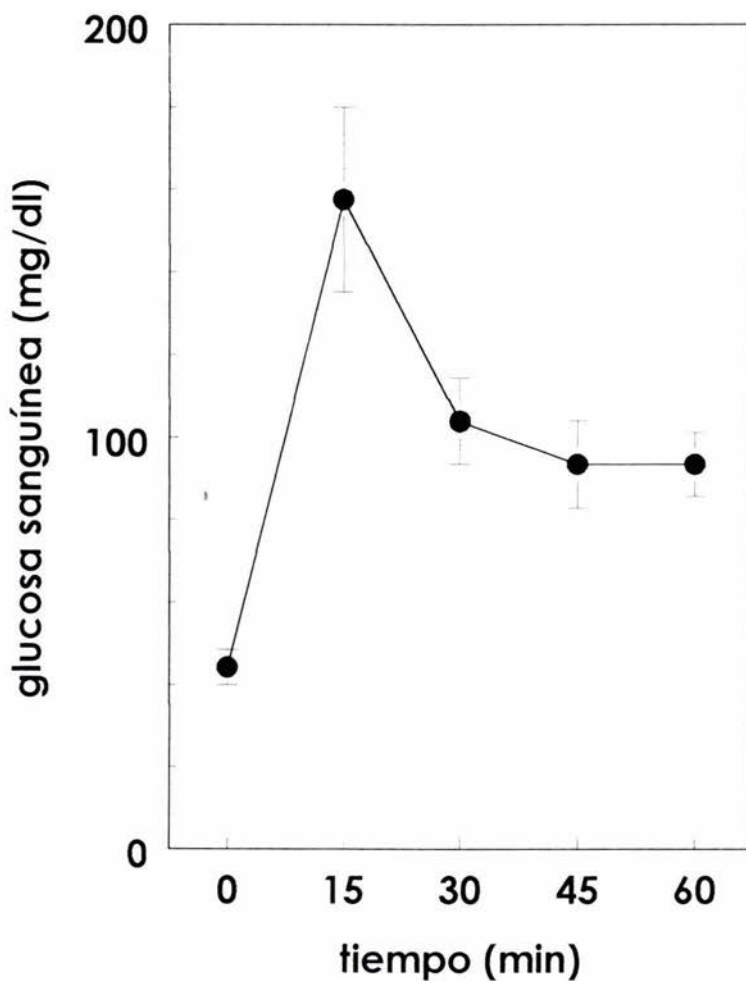
La Tabla 4, muestra los resultados de las pruebas fitoquímicas a través de reacciones coloridas realizadas al extracto acuoso de las hojas, para la identificación de metabolitos secundarios vegetales, que indican la presencia de esteroides.

Prueba Salkowsky	Reconocimiento de esteroides (+)
Antraquinonas	(-)
P. Shinoda	Reconocimiento de flavonoides (-)
P. Baljet	Rec. de Sesquiterpenlactonas (-)
P. Meyer	Rec. de Alcaloides (-)

Tabla 4. Pruebas fitoquímicas realizadas a las hojas frescas de *Tournefortia hirsutissima*.

1.- Curva de hiperglucemia en ratas control.

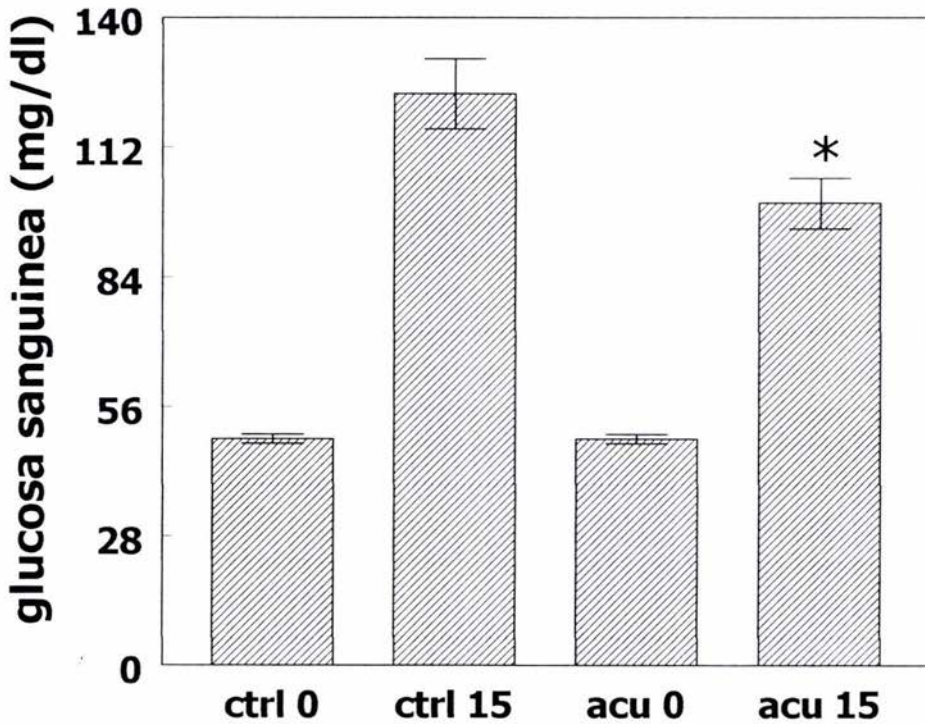
En ratas con un periodo de 18 h de ayuno se encontró una glucemia de 44 ± 4 mg/dl. Después de proporcionar una carga de glucosa (2 g/kg, vía s.c.) se cuantificaron las concentraciones sanguíneas de glucosa cada 15 min y se observó que a los 15 min se presenta el pico de hiperglucemia en organismos control (157 ± 22 mg/dl), es decir, un incremento del 200% (Gráfica 1).



Gráfica 1. Curva de tolerancia a la glucosa en ratas control (n = 5).

2.- Efecto del extracto acuoso de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas normales.

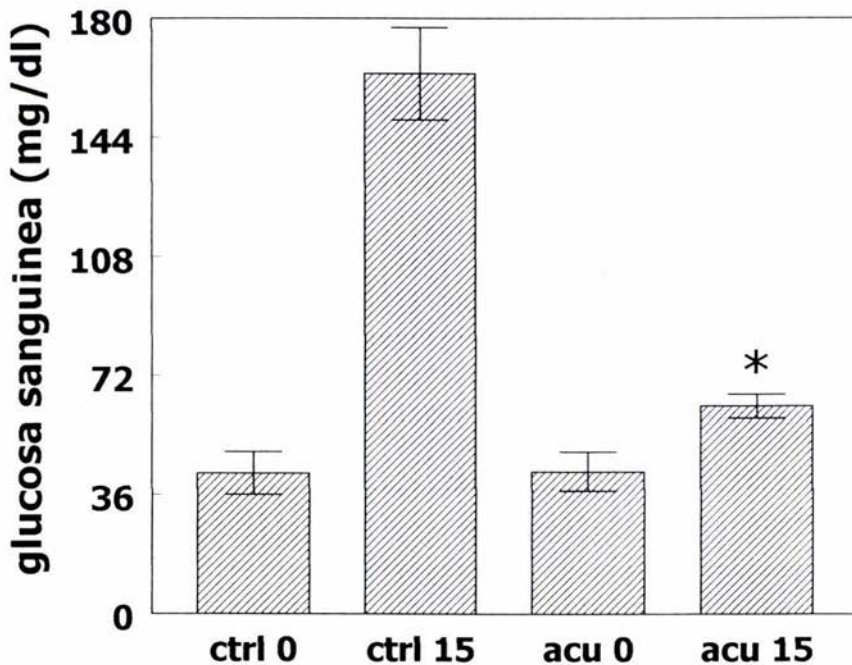
A organismos con previo ayuno de 18 h se les administró el extracto acuoso (100 mg/kg, v.o) de hojas frescas de *T. hirsutissima* 20 min antes de darles la carga de glucosa; se observó una reducción del pico de hiperglucemia a los 15 min, del 19%. El grupo control a los 15 min alcanzó 123 ± 7.5 mg/dl de glucosa en sangre y los organismos tratados con el extracto acuoso 100 ± 5.4 mg/dl (Gráfica 2).



Gráfica 2. Efecto del extracto acuoso (100 mg/kg v.o) hojas de *T. hirsutissima* en ratas con ayuno (n = 5; * p< 0.05 comparado con el control).

3.- Efecto del extracto acuoso de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas normales.

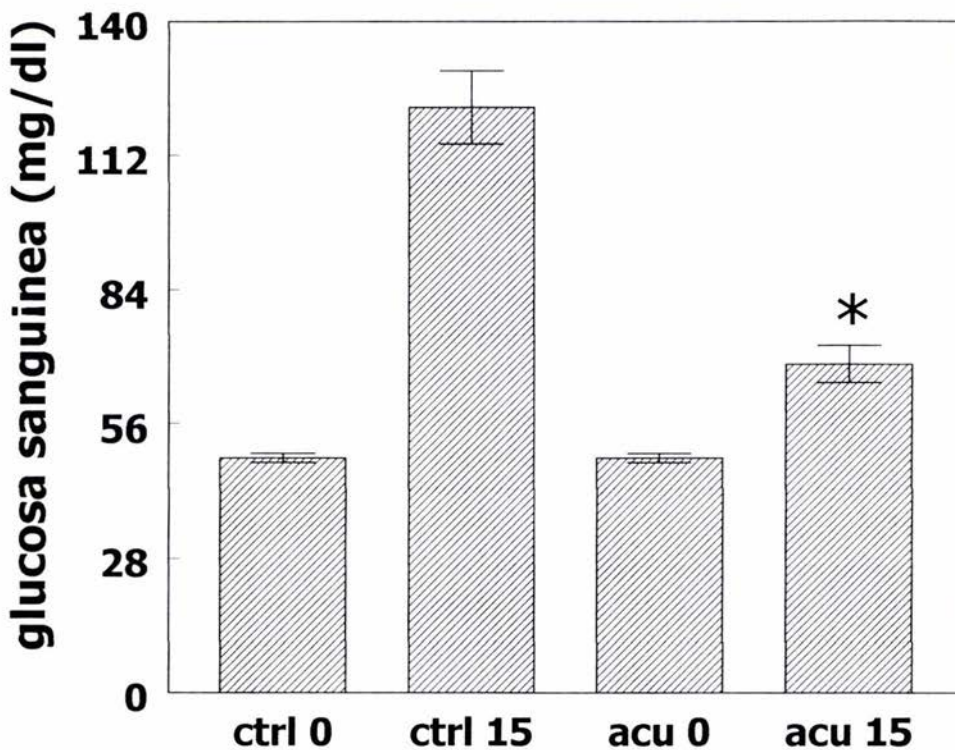
A organismos con 18 h de ayuno, se les administró el extracto acuoso (100 mg/kg, v.o) de hojas de *T. hirsutissima* frescas 90 min antes de darles la carga de glucosa (2 g/kg, vía s.c.) y se notó una reducción del pico de hiperglucemia, que se observó a los 15 min, del 58%. El control mostró 163 ± 14 mg/dl de glucosa sanguínea y al grupo que se trató con el extracto acuoso 62.8 ± 3.6 mg/dl (Gráfica 3).



Gráfica 3. Efecto del extracto acuoso (100mg/kg) de las hojas frescas de *T. hirsutissima* (90 min antes) en ratas en ayunas (n = 5, * p \leq 0.05 comparada con el control a los 15 min).

4.- Efecto del extracto acuoso de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas normales.

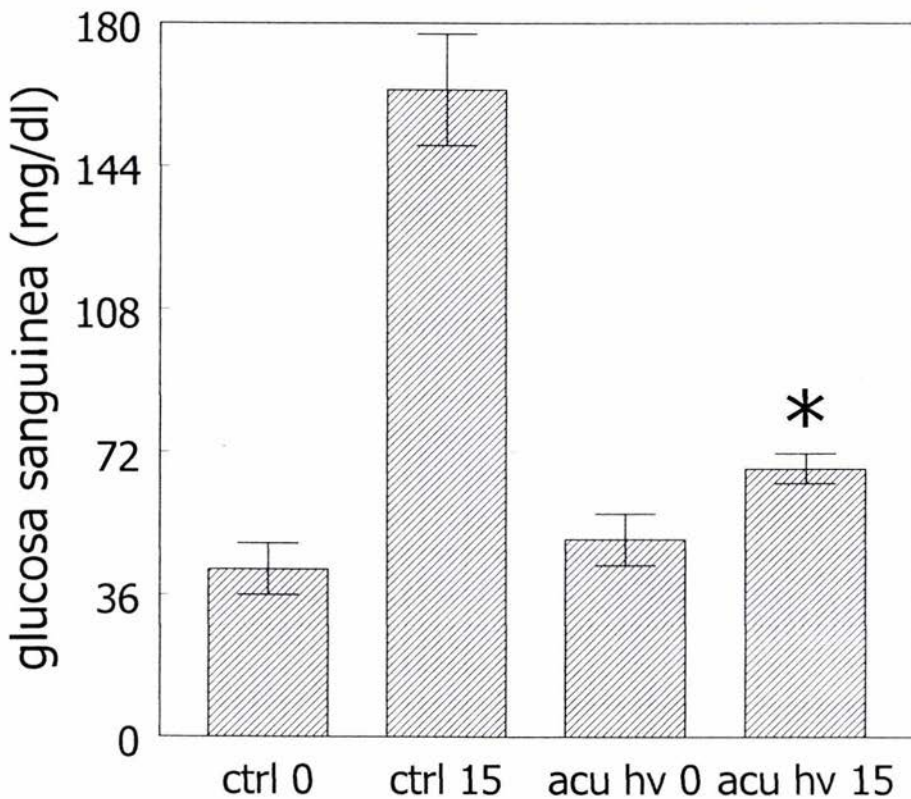
A organismos con previo ayuno de 18 h se les administró el extracto acuoso de hojas frescas de *T. hirsutissima* 90 min antes de darles la carga de glucosa, se observó una reducción del pico de hiperglucemia a los 15 min, del 44%. El grupo de ratas control mostró 122 ± 7.6 mg/dl de glucosa en sangre y el grupo tratado con el extracto acuoso alcanzó 68.5 ± 3.9 mg/dl (Gráfica 4).



Gráfica 4. Efecto hipoglucémico del extracto acuoso (100 mg/kg, v.o.) de *T. hirsutissima*, con pretratamiento de 90 min en ratas con periodo de ayuno ($n = 5$; * $p \leq 0.05$ comparado con el control a los 15 min).

5.- Efecto de los extractos acuoso hervido de las hojas de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas normales.

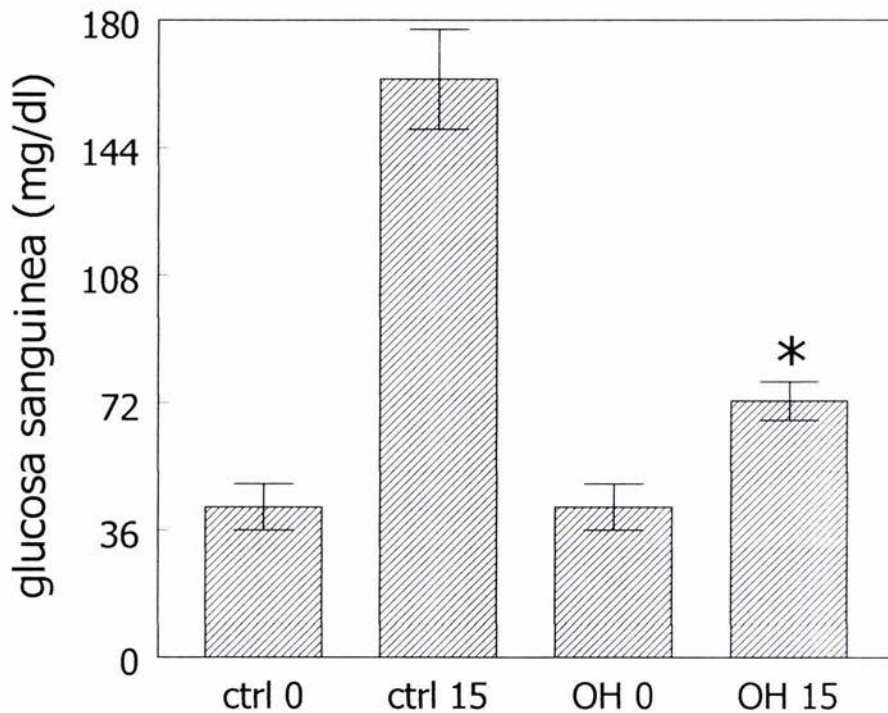
Se sometieron a organismos a 18 h de ayuno y se les administró el extracto acuoso hervido (por 10 min) de las hojas frescas de *T. hirsutissima* 90 min antes de darles la carga de glucosa y se observó una reducción del pico de hiperglucemia a los 15 min, 55% del extracto acuoso hervido. El grupo control alcanzó 165 ± 14 mg/dl de glucosa en sangre; mientras que el extracto acuoso hervido presentó 68 ± 3 mg/dl (Gráfica 5).



Gráfica 5. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso hervido (100 mg/kg, v.o) de las hojas de *T. hirsutissima* (n = 5; * p ≤ 0.05 comparado con el control a los 15 min).

6.- Efecto del extracto metanólico de las hojas de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas normales.

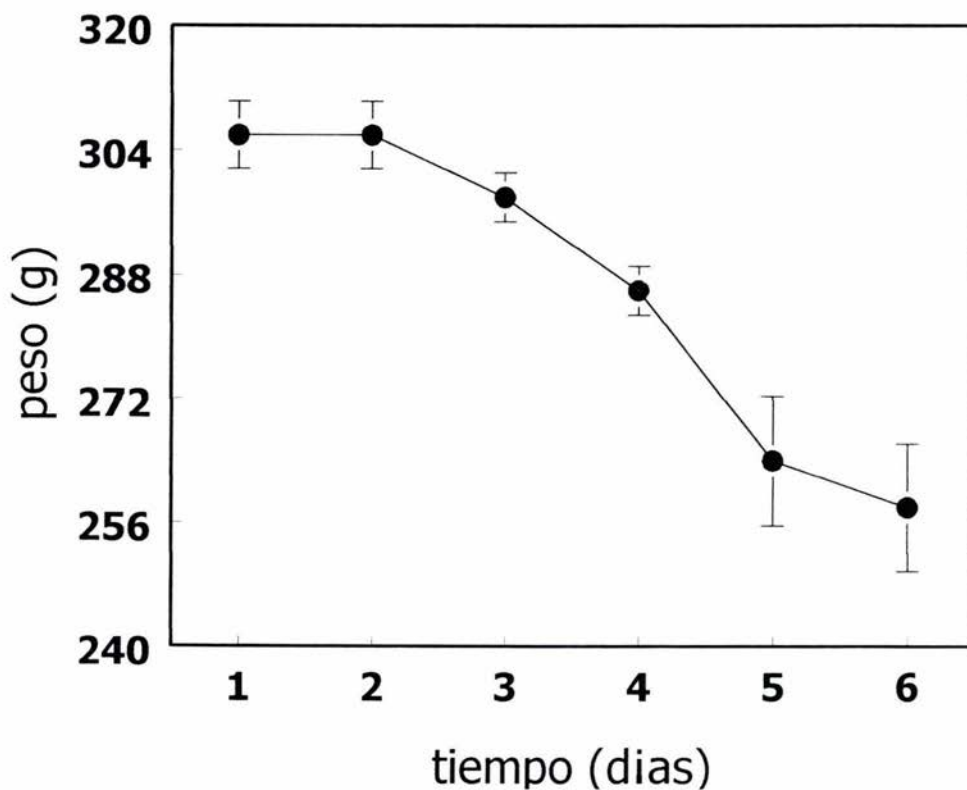
Se sometieron a organismos a 18 h de ayuno y se les administró el extracto metanólico (100 mg/kg, v.o) de las hojas frescas de *T. hirsutissima* 90 min antes de darles la carga de glucosa y se observó una reducción del pico de hiperglucemia a los 15 min, 50% del extracto metanólico. El grupo control alcanzó 165 ± 14 mg/dl de glucosa en sangre; el extracto metanólico lo redujo a 72.5 ± 5.4 mg/dl (Gráfica 6).



Gráfica 6. Efecto hipoglucemiante del extracto metanólico (100 mg/kg, v.o) de las hojas de *T. hirsutissima* (n = 5; * p \leq 0.05 comparado con el control a los 15 min).

7. Pérdida de peso en ratas diabéticas inducidas con aloxana (175 mg/kg)

Entre los signos de la diabetes se presenta la pérdida de peso, por lo que a 20 ratas se les indujo diabetes con aloxana (175 mg/kg, vía i.p.) por 3 días (Jaouhari y col., 2000) y se registró la pérdida de peso. Observamos una disminución del peso del 30%, ya que esta diabetes es severa y al comienzo del tratamiento se registró un peso de 306 ± 4.3 g y al finalizar 259 ± 8.2 g (Gráfica 7).



Gráfica 7. Pérdida de peso en ratas diabéticas inducidas con aloxana (175 mg/kg) (n = 20) durante los 6 días de estudio.

8. Otros signos clásicos de Diabetes en ratas tratadas con aloxana

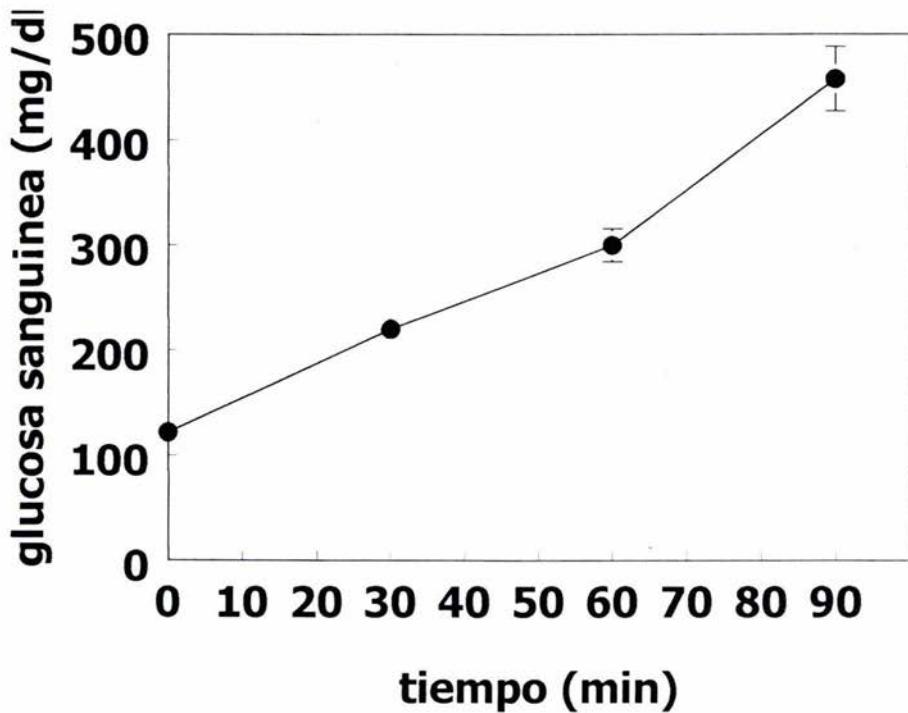
Los signos de la diabetes son: el aumento en la ingesta de agua (polidipsia) aumento en la ingesta de alimento (polifagia) y aumento en la excreción de orina (poliuria), por lo cual se valoraron estos eventos en ratas control y en ratas diabéticas al sexto día durante 20 h, observamos un aumento de 6 veces en la eliminación de orina, el doble en el consumo de agua y un 20% en la ingesta de alimento (Tabla 5).

Organismos	Excreción de Orina (ml/20 h)	Consumo de agua (ml/kg)	Consumo de alimento (ml/kg)	Glucosa sanguínea (mg/dl)
Diabéticos	257	277.13	75.71	432 ± 28.5
Control	39	131.94	63.24	127 ± 5.82

Tabla 5. Comparación del consumo de agua, alimento y excreción de orina en ratas normales y diabéticas durante 20 horas.

9. Curva de tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas.

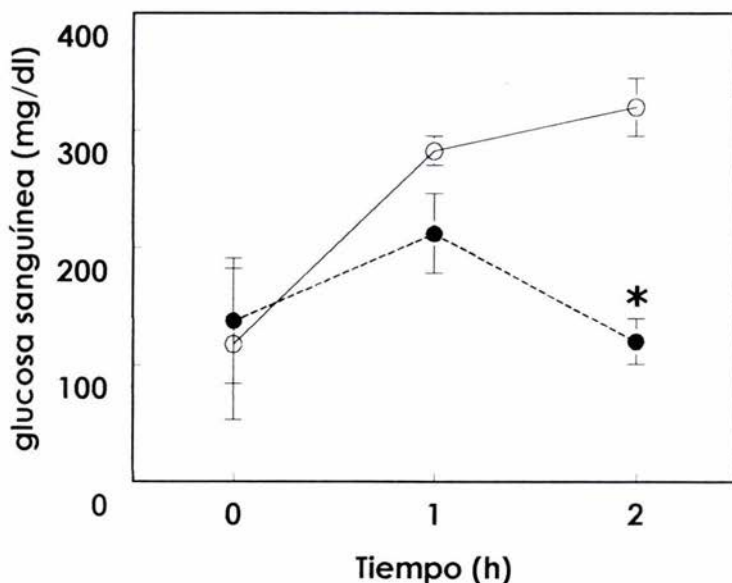
Para conocer el manejo de la glucosa sanguínea en ratas diabéticas inducidas con aloxana (175 mg/kg, i.p., por 3 días) se realizó una curva de tolerancia a la glucosa al séptimo día de la aplicación del agente. Se les encontró una glucemia de 101.5 ± 12.5 mg/dl después de un ayuno por 18 h. Se les aplicó una carga de glucosa al 50% (2 mg/kg, vía subcutánea) y se observó que a los 30 minutos se duplicó la glucosa en sangre (220 ± 0.7 mg/dl) y continuó ascendiendo. En una hora se registró una glucemia de 300 ± 0.7 mg/dl que llegó a los 450 mg/dl a los 90 min (Gráfica 8).



Gráfica 8. Curva de tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas inducidas con aloxana 175 mg/kg (i.p.) por 3 días (n = 20).

10. Efecto del extracto acuoso de *T. hirsutissima* en ratas diabéticas.

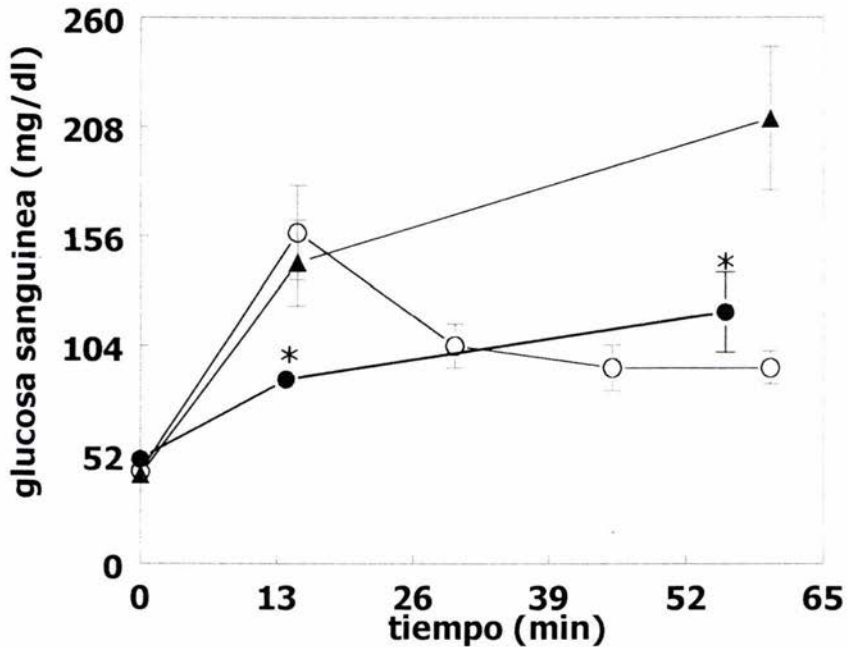
Para probar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso en ratas diabéticas, primero se les indujo la patología durante 3 días con aloxana (120 mg/kg, i.p.) y al séptimo día, después de un periodo de ayuno de 18 h se les determinó la glucosa en sangre que fue de 120 ± 64.35 mg/dl y enseguida se les administró el extracto acuoso (200 mg/kg, v.o.) de *T. hirsutissima*; una hora después se les dio la carga de glucosa (2 g/kg, s.c.) y se registró la glucemia cada hora. En la primera hora el control se encontraba en 300 ± 25 mg/dl y a la segunda hora aumentó a 320 ± 4.7 mg/dl, mientras que el grupo que recibió el extracto acuoso registró a la primera hora una glucemia de 200 ± 34 mg/dl y a la segunda hora estaba al nivel basal (menos de 120 ± 15 mg/dl), por lo que se registró una reducción de la hiperglucemia del 66% (Gráfica 9).



Gráfica 9. Efecto del extracto acuoso de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas diabéticas inducidas con aloxana (120 mg/kg). ratas diabéticas control (0) y tratadas con el extracto acuoso (0) (n =10; *p ≤ 0.05 comparado con el control a las 2 hr).

11- Efecto del extracto acuoso de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia en ratas diabéticas

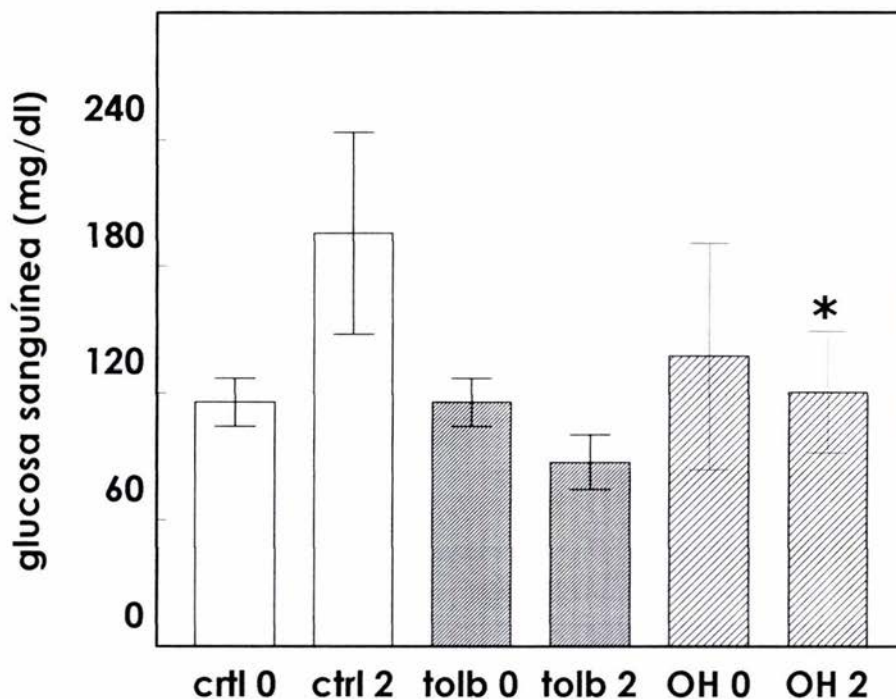
A organismos normoglucémicos y diabéticos en ayuno por un período de 18 h se les dio (2 g/kg, s.c de glucosa) el grupo control con hiperglucemia temporal mostró un glucemia a los 15 min, de 157 ± 22.4 mg/dl y a la hora de 94 ± 8 mg/dl y las ratas tratadas con aloxana alcanzaron a los 15 min 143 ± 20.5 mg/dl y a la hora de 212 ± 34 mg/dl mientras que el grupo al que se le administró el extracto acuoso registró a los 15 minutos 88 ± 3 mg/dl y a la hora 120 ± 19 mg/dl es decir redujo hasta un 100% (Gráfica 10).



Gráfica 10. Efecto hipoglucémico del extracto acuoso de hojas de *T. hirsutissima*, administrado 90 min antes, en ratas ayunadas y tratadas con aloxana, control con hiperglucemia temporal (○), ratas diabéticas control (▲) y diabéticas con extracto acuoso (●) (n = 10; * p ≤ 0.05 comparado con el control a los 15 min y a la hora).

12. Efecto del extracto metanólico en ratas diabéticas.

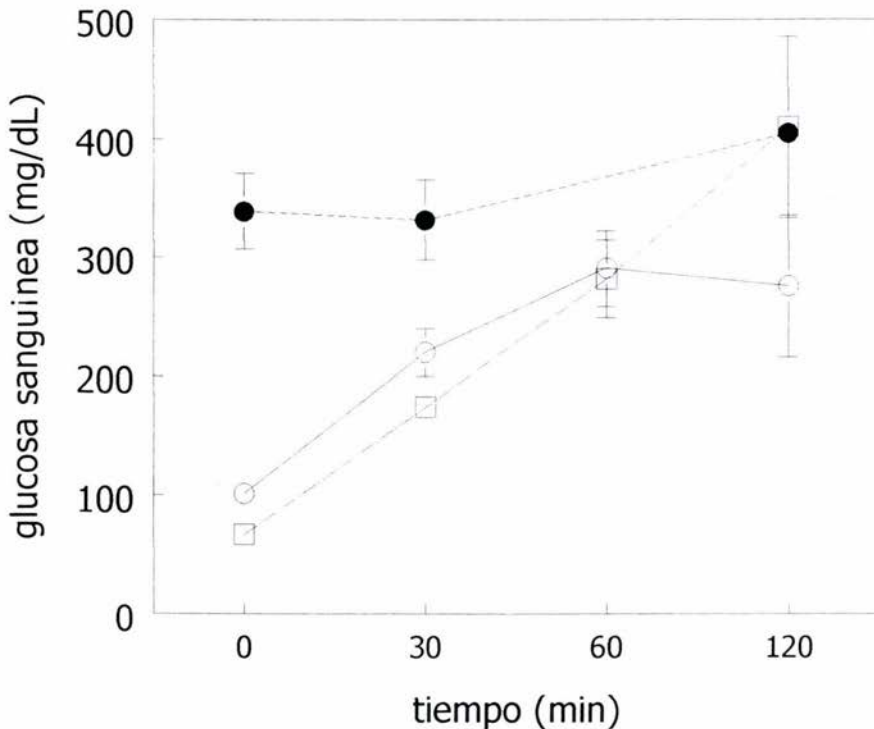
A organismos sometidos a un periodo de ayuno por 18 h se les administró el extracto metanólico (200 mg/kg v.o) 1 h antes de la carga de glucosa (2 g/kg s.c.) y se observó que el grupo al que se le administró el extracto metanólico no tuvo efecto así como el grupo al que se le administró tolbutamida (fármaco de referencia, 40 mg/kg v.o.) (Gráfica 11).



Gráfica 11. Efecto del extracto metanólico (100 mg/kg, v.o) y la tolbutamida (40 mg/kg, v.o.) en ratas diabéticas inducidas con aloxana (n = 5; *p ≤ 0.05 comparado con el control a los 60 min).

13. Efecto del extracto clorofórmico de las hojas de *T. hirsutissima* sobre la hiperglucemia temporal en ratas.

Se probó el efecto de los extractos metanólico y clorofórmico de las hojas frescas *T. hirsutissima* (con pretratamiento de 90 min, por vía oral) en ratas hechas diabéticas con aloxana (175 mg/kg, por 3 días). Se hizo la prueba de tolerancia a la glucosa y se observó que los extractos metanólico y clorofórmico no redujeron la glucemia (Gráfica 12)



Gráfica 12. Efecto de los extractos metanólico (○) y clorofórmico (□) de las hojas frescas *T. hirsutissima* (90 min antes) en ratas hechas diabéticas con aloxana 175 mg/kg. El grupo control tratado con el vehículo (●) (n = 5).

DISCUSIÓN.

Después de realizar la investigación bibliográfica sobre los efectos biológicos de *Tournefortia hirsutissima* no encontramos trabajos experimentales farmacológicos que validen el uso que le da la población de Naranjos-Amatlán, Ver., a las hojas de este arbusto en el tratamiento de la diabetes. Alarcón-Aguilar y col. (1998) mostraron el efecto antihiper glucémico del extracto acuoso de los tallos (45 mg/kg, v.o) de *T. hirsutissima* ya que disminuyó en un 21.7% el pico de hiper glucemia en conejos normales.

Curva de tolerancia a la glucosa.

En las ratas normales observamos que después de la carga de glucosa de 2 g/kg (s.c.) el pico de hiper glucemia se presentó a los 15 min y tuvo una magnitud del doble del valor inicial después de un periodo de ayuno de 18 h. A los 30 min el nivel de la glucemia ya había descendido seguramente debido a la utilización de la glucosa en las células musculares y en las células hepáticas; de 45 a 60 min la glucemia ya había regresado y se mantuvo en los valores normales para ratas sin periodo de ayuno.

El rápido descenso de la glucosa por los organismos normales se debe a un aumento del ritmo de su utilización por los tejidos, inducido por una secreción elevada de insulina y una disminución del glucagón por parte del páncreas, como respuesta al elevado nivel de glucosa de la sangre (Lehninger, 1990).

Efecto hipoglucemiante de las hojas de *T. hirsutissima*.

En ratas normales sometidas a un periodo de ayuno de 18 h se administró el extracto acuoso de las hojas de *T. hirsutissima* en la dosis de 100 mg/kg (v.o.) 20 min antes de la carga de glucosa y se observó una reducción del 19% del pico de hiper glucemia. Cuando el tratamiento se dio 90 min antes de la carga de glucosa el efecto fue mayor (44% de reducción). Esto indica que el extracto acuoso de las hojas de *T. hirsutissima* tienen actividad hipoglucemiante y que el efecto es mayor si se permite que el o los componentes activos se absorban completamente dando un tiempo

de pretratamiento de 90 min al administrarlo por vía oral. El hecho de que el extracto acuoso muestre su efecto por vía oral nos indica que los principios activos resisten el tránsito por el tracto digestivo, es decir, el pH ácido del estómago y las enzimas digestivas. Por ello, consideramos que la sustancia activa no es una proteína que bajo estas condiciones se desnaturizaría perdiendo su conformación activa y su efectividad terapéutica o incluso sería degradada. Esta es la razón por la que la insulina no se administra por vía oral sino parenteral, de manera que evite su paso por el tracto digestivo. También, el hecho de que extracto acuoso de esta planta mantenga su efectividad cuando se somete a ebullición confirma que la sustancia activa no es una proteína que a altas temperaturas se desnaturiza y por lo tanto se trata de una sustancia estable al calor. Ahora, que la fracción metanólica del extracto acuoso muestre efectividad sugiere que los principios activos son metabolitos secundarios. Entre los metabolitos secundarios vegetales con efecto hipoglucemiante están los flavonoides, los triterpenos y las coumarinas (Marles and Fansworth, 1995; Oiewole, 2002).

El efecto hipoglucémico del extracto podría deberse a una inhibición del proceso de degradación del glucógeno (glucogenólisis) o de inducción de su síntesis (glucogenogénesis); ambos procesos son efecto de la insulina.

Organismos diabéticos por inducción con aloxana.

Para tener un modelo experimental en el cual poder estudiar si el extracto acuoso de las hojas de *T. hirsutissima* tiene efecto antidiabético se trataron ratas con aloxana (175 mg/kg, i.p., por 3 días) lo que produce una diabetes severa (glucemia de 450 mg/dl) y 120 mg/kg (i.p., por 3 días) que produce una diabetes moderada (glucosa 250 mg/dl). Este agente actúa a través de la generación de especies reactivas de oxígeno e incremento en la peroxidación de lípidos que dañan a las células beta pancreáticas.

Otra gran distorsión del metabolismo de la glucosa en la diabetes consiste en el cese casi completo de la conversión de la glucosa en ácidos grasos por la vía de la acetil-Coenzima A. Tal vez hasta un tercio del total de los glúcidos ingeridos pueden convertirse en ácidos grasos y, por tanto, en triglicéridos, en el hígado y en los

depósitos de grasa de los animales normales (Grover y col., 2000). La aceleración de la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos y la inhibición de la síntesis de ácidos grasos a partir de glucosa indican que el metabolismo del organismo diabético está afinado para mantener la mayor concentración posible de glucosa en la sangre, a pesar de que su nivel sanguíneo pueda exceder en mucho el umbral renal para la glucosa. La pérdida constante de glucosa por la orina de los diabéticos, gran parte de la cual se forma a expensas de los aminoácidos ingeridos o de la proteína corporal, explica la permanente sensación de hambre y la pérdida de peso en los diabéticos graves (Lehninger, 1990).

Para corroborar que los organismos estaban diabéticos, se realizó un registro de la cantidad de agua, alimento y excreción de orina durante 20 horas. La glucemia en ayunas puede alcanzar varias cifras superiores a las normales, ya que cuando la concentración de glucosa circulante supera el umbral renal, se produce glucosuria, lo que ocasiona diuresis osmótica y por lo tanto poliuria, provocando una intensa pérdida de agua y electrólitos, lo cual promueve una sed intensa, polidipsia, y aumento del apetito.

Tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas.

Para conocer el manejo de la glucosa sanguínea en ratas diabéticas inducidas con aloxana (175 mg/kg, i.p., por 3 días) se realizó una curva de tolerancia a la glucosa al séptimo día de la aplicación del agente. Se observó que a las 2 h la glucemia fue de 450 mg/dl mientras que en organismos normales la glucemia regresa a su nivel normal a los 30 min.

Por otra parte, los diabéticos muestran un incremento mucho mayor de concentración de glucosa en sangre, que ya inicialmente es superior al normal. También muestran un período más prolongado de hiperglucemia y un descenso más lento. Después de la prueba de administración de una dosis de glucosa también pueden manifestar glucosuria (aumentada).

Los tejidos periféricos de los animales diabéticos funcionan de un modo deficiente en la extracción de hexosas de la sangre con niveles normales de glucosa sanguínea. Sin embargo, si se aumenta la glucosa sanguínea hasta niveles elevados,

como los presentes en la diabetes grave (hasta 500 mg/dl) la absorción de glucosa resulta sustancialmente incrementada llegando a presentar un ritmo casi normal.

Efecto antidiabético del extracto acuoso de las hojas de *T. hirsutissima*.

El extracto acuoso de las hojas de *T. hirsutissima* también probó su efectividad al usarlo en el tratamiento de ratas diabéticas inducidas con aloxana (120 mg/kg).

Cuando se probó la tolerancia a la glucosa en ratas con diabetes severa con aloxana (niveles de glucemia superiores a 400 mg/dl), los extractos metanólico y clorofórmico de las hojas frescas *T. hirsutissima* no redujeron la glucemia. Esto puede indicar que el mecanismo de acción de *T. hirsutissima* se da a través de la inducción de la liberación de la insulina, lo cual requiere de al menos un 30% de células pancreáticas funcionales y en esta diabetes severa seguramente el páncreas se encuentra con un daño mucho mayor. Para probar que el extracto induce la liberación de la insulina, más no su síntesis, se emplearían otros sistemas experimentales, como el de células pancreáticas beta aisladas y la determinación de la insulina en las células y en el medio de cultivo por técnicas de radioinmunoanálisis (Chattopadhyay, 1999).

El mecanismo de acción no se conoce hasta el momento y el efecto hipoglucémico puede deberse a algunas de las siguientes razones: incremento en la liberación de la insulina pancreática, absorción reducida de la glucosa desde el intestino o un incremento en la captación de la glucosa en los tejidos periféricos (Aviar y col., 2001). La inhibición de la captación de glucosa puede deberse a la acción de fibras de la planta o a la inhibición del transportador de glucosa (Sugandhika y col., 2000; Benwahhoud y col., 2001; Peungvicha y col., 1998).

La fitoquímica que se realizó al extracto acuoso de las hojas de *T. hirsutissima* nos indica que presenta metabolitos secundarios, principalmente esteroides. En el género *Tournefortia* se han encontrado metabolitos secundarios como alcaloides, flavonas, triterpenoides y cinamatos de acuerdo con las investigaciones realizadas por Ogihara y col. (1997) a *Messerschmidia (Tournefortia) argentea*.

Actualmente, es muy difícil esbozar alguna conclusión lógica sobre el mecanismo de acción de tan diversa mezcla de compuestos químicos contenidos en el extracto acuoso usado en este estudio. En el presente, los constituyentes químicos exactos del

extracto de la planta que son específicamente responsables del efecto hipoglucémico de las hojas de *T. hirsutissima* permanecen en especulación. Sin embargo, si la hipótesis de Marles and Farnsworth (1995) la cual indica que las plantas que contienen terpenoides y/o coumarinas poseen actividades hipoglucémicas en animales diabéticos y normales es correcta, sería razonable sugerir que, al menos en parte, el efecto hipoglucémico de las hojas de *T. hirsutissima* puede deberse a los terpenoides presentes en la planta (Ogihara y col., 1997). Uno o más de los otros constituyentes químicos de la planta (Tabla 4) es también probable que contribuya al efecto hipoglucémico del extracto acuoso de las hojas. Por ahora, sin embargo, el mecanismo de la acción hipoglucémica de la planta no se conoce.

Aunque el efecto hipoglucémico de los terpenoides parece involucrar la estimulación de la células pancreáticas beta y la subsecuente secreción de insulina, el mecanismo de acción de las coumarinas probablemente involucra hepatotoxicidad (Marles and Farnsworth, 1995). Las coumarinas son hepatotóxicas en ratas y perros, donde se metabolizan a través de la vía de la 3-hidroxycoumarina a metabolitos reactivos de quinona que se unen covalentemente a las proteínas microsomales. En humanos y otros primates, las coumarinas se metabolizan a través de la vía de la 7-hidroxycoumarina a conjugados con ácido glucurónico que son rápidamente excretados del cuerpo y no ocurre hepatotoxicidad en seres humanos.

Otros metabolitos secundarios que tienen efectos hipoglucemiantes son los flavonoides como la epicatequina (1mM) que incrementa la secreción de insulina de los islotes de Langerhans aislados de rata, en presencia de glucosa 2 mM (Hii y Howell, 1984). Kameswara y col. (2001) encontraron epicatequina en *Pterocarpus santalinus* que presentó efecto hipoglucemiante.

CONCLUSIONES.

Hasta el momento, de nuestros resultados experimentales podemos concluir lo siguiente:

- Los extractos acuoso y metanólico de las hojas frescas de la planta *T. hirsutissima* tienen actividad hipoglucemiante en ratas normales y en ratas diabéticas.
- El principio(s) activo(s) es estable al calor, por lo cual no se trata de una sustancia de naturaleza proteínica.
- El extracto clorofórmico no mostró el efecto hipoglucemiante en ratas tratadas con aloxana, pero si en ratas con hiperglucemia temporal.
- Se recomienda el extracto acuoso de las hojas frescas de *T. hirsutissima* para el control de la diabetes.

IZT.



U.N.A.M CAMPUS

BIBLIOGRAFÍA.

- Alarcón-Aguilar, F. J., Román-Ramos, R., Pérez-Gutiérrez, S., Aguilar-Contreras, A., Contreras-Weber, C. C., y Flores-Sánchez, J. L. (1998). Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *J. of Ethnopharmacology*. 61: 101-110.
- Alberti K.G., Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Med.* 15: 539-53.
- Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, V. S., Jácquez, P., López, V. E. (1994). Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Información Etnobotánica*. México
- Aviar, M. J., Sánchez Riera, A. N., Grau, A., Sánchez, S. S. (2001). Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J. of Ethnopharmacology*. 74: 125 – 132.
- Benwahhoud, M., Jouad, H., Eddouks, M., Lyoussi, B. (2001). Hypoglycemic effect of *Suaeda fruticosa* in streptozotocin- induced diabetic rats. *J. of Ethnopharmacology*. 76: 35 – 38.
- Cotran, R. S., Kumar, V., Robbins, S. L., Shoen, F. J. (1995). *Patología estructural y funcional*, 5ª edición. Editorial Mac Graw Hill Interamericana, Madrid España.
- Chattopadhyay, R. R. (1999). Possible mechanism of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract: part V. *J. of Ethnopharmacology*. 67: 373-376.
- Domínguez, A. (1979). *Métodos de investigación fitoquímica*. Ed. Limusa. pp. 84, 97-98, 113, 141, 217-219.

Evans, E. J ., Krentz A. J. (1999). Benefits and risks of transfer from oral agents to insulin in type 2 diabetes mellitus. *Drug Saf*; 21(1): 7-22.

Foster, D. W. (1998). Diabetes mellitus. En: Fauci AS et al, (editores). *Harrison Principios de Medicina Interna*. 14ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, pp. 2341-65.

Grover, J. K., Vats, V., Rathi , S. S. (2000). Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes an their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. of Ethnopharmacology*. 73: 461 – 470.

Guyton, A. C., y Hall, J. E. (1997). *Tratado de Fisiología Médica*. Mac Graw-Hill Interamericana. México pp. 1063-1067.

Haffner, S. M. (1999). Epidemiology of insulin resistance and its relation to coronary artery disease. *Am. J. Cardiol*. 84: 111-141.

Hartman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman-Gilman, A. (1996). *Bases farmacológicas de la terapéutica*. 9º Edición, editorial. Mac Graw-Hill Interamericana. México.

Hii, C. S., Howell, S. L (1984). Effects of epicatechin on rat islets of Lagerhans. *Diabetes* 33: 291-296.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Carta Geográfica, Geológica, Hidrológica, Climática y Vegetación. Clave (F14 C53, México 1997) Escala 1, 50 000

Jaouhari, T., Lazrek, H. B., y Jana M. (2000). The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *J. of Ethnopharmacol*. 69: 17-20.

Kameswara Rao, B., Giri, R., Kesavulu, M. M., Apparao, C. (2001). Effect of oral administration of bark extracts of *Pterocarpus santalinus* L. on blood glucose level in experimental animals. *J. of Ethnopharmacology*. 74: 69-74.

Lawrence H. M. G (1951). *Taxonomy of Vascular Plants*. Mac Millan Publishing. Co. Inc. New York.

Lehninger, A. L. (1990). *Bioquímica*. Editorial Omega, España.

Marles, R. J., Farnsworth, N. R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2: 137-189.

Martínez, M. (1979). *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*. Fondo de Cultura Económica. México.

Marcks, V. L., Dawson, A. (1965). Rapid stick method for determining blood glucose concentration. *Brit. Med.J.* 1:293

Ogihara, K., Iraha, R., Higa, M., Yogi, S. (1997). Studies on constituents from the twigs of *Messerschmidia argentea* II. *Bulletin of the College of Science, University of the Ryukyus*. 64: 53-59.

Ossei, K. (1999). Insulin resistanse and systemic hipertension. *Am. J. Cardiol.* 84: 331-361.

Ojewole, J. A. O (2002). Hypoglycaemic effect of *Clausena anisata* (Willd) Hook methanolic root extract in rats. *J. of Ethnopharmacology* 81: 231-237.

Peungvicha, P., Tirawarapan, S. S., Temsiririrkkul, R., Watanabe, H., Prasain, J., Kadota, S. (1998). Hypoglycemic effect of the water extract of *Piper sarmentosum* in rats. *J. of Ethnopharmacology* 60: 27-72.

Ramos, R. R., Alarcón-Aguilar, F., Lara-Lemus, A., Flores-Sáenz, J. L. (1992). Hypoglycemic Effect of Plants Used in México as Antidiabetics. *Archives of Medical Research* . 23: 59-64.

Rosenstock., J. (2001). Managements of type 2 Diabetes mellitus in the elderly: special considerations. *Drugs Aging* 18(1): 31-44

Sugandhika-Malavidhahane, T., Nalinie-Wickramasinghe, S. M. D., Jansz, E. R. (2000). Oral hypoglycaemic activity of *Ipomoea aquatica*. *J. of Ethnopharmacology*. 72: 293-298.

Wunderlin, R., y Hansen, B. (2000). Atlas of Florida Vascular Plants. Institute for Systematic Botany. University of South Florida. State of Florida: 2717.