



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**COMPONENTES QUÍMICOS DE UNA PLANTA CON ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE
“CHILACAYOTE” (*Cucurbita ficifolia*)**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
MARBELLA CLAUDIA GARCIA MENDEZ



TUTOR: TIRSO RIOS CASTILLO

AÑO:2009



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.

DEDICATORIAS

A mis queridos padres: Sofía Méndez y Alfonso Ismael García Hernández, por el inmenso amor incondicional que me han brindado durante toda la vida y porque me enseñaron a ser una buena estudiante.

A mis hermanos: Lilia Margarita, Erica Marcela, Azalia Soledad, Mayra Isabel y Alfonso de Jesus por la influencia que fueron para que sea la persona que soy.

A mi familia que casi no veo, pero que no olvido.

A mis amigos por su compañía y apoyo en los momentos más difíciles de este camino.

Mi cabeza es un laberinto oscuro. A veces hay como relámpagos que iluminan algunos corredores. Nunca termino de entender por qué hago ciertas cosas.

Ernesto Sabato. "El túnel".

AGRADECIMIENTOS

-A Dios porque siempre me ha guiado y me ha proporcionado a las personas más bellas que cualquier persona desearía tener en su camino. Y porque gracias a ti soy la persona que soy ahora.

-A mi asesor de tesis, el Dr. Tirso Ríos Castillo, a quien admiro y respeto por su gran humildad y paciencia, por aceptarme como su alumna y compartirme sus conocimientos, por brindarme su apoyo y confianza. ¡Gracias Doctor y que Dios lo bendiga siempre;

-Al Dr. Leovigildo Quijano con cuya colaboración y apoyo técnico conté en todo momento.

-A mis amigos: Monica, Ivonne, Sandra, Thayde, Jose Luis, Jorge, Verónica, Baldomero, Freddy, Ivan, Mizrain.

-A mi jurado de tesis: Dra. María Yolanda Ríos Gómez, M en C. Emma Maldonado Jiménez, Dr. Andres Navarrete Castro, Dr. Alfonso Romo de Vivar y Dr. Eugene A. Bratoeff Titeff, por su tiempo y dedicación para la revisión de esta tesis.

-A los técnicos de resonancia por permitirme correr mis muestras. A la M en C. Teresa Ramírez Apan y el M en C. Antonio Nieto Camacho del laboratorio de pruebas biológicas, por facilitar la realización de está.

-A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO por abrirme sus puertas y brindarme lo necesario para mi formación profesional.

-A mis padres, que a sus posibilidades, me dieron estudios para ser una mejor persona y tener un mejor futuro. A mis hermanos por su amor y apoyo incondicional, por que se que siempre puedo contar con ustedes.

-Un agradecimiento especial a la Unidad de Informática del Instituto de Química (UNIIQUIM) y en particular al coordinador de dicha unidad el M en C. Baldomero Esquivel Rodríguez y al equipo que la conforma: Rebeca, Osvaldo, Rocío y Noé, por facilitarme material para la realización de esta tesis.

JURADO ASIGNADO

Presidente Dr. Alfonso Romo de Vivar
Dra. María Yolanda Ríos Gómez
Dr. Eugene A. Bratoeff Titeff
Dr. Andres Navarrete Castro
M en C. Emma Maldonado Jiménez

Candidata al grado Marbella Claudia García Méndez

Asesor Dr. Tirso Ríos castillo

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio de Productos Naturales. Departamento de Productos Naturales
Instituto de Química. UNAM

ÍNDICE	Pág.
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
I. INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVO	6
II. PARTE TÉORICA	7
2.1 Cucurbita ficifolia	7
2.2 Diabetes Mellitus	10
2.3 Plantas utilizadas para el control de la Diabetes	12
2.4 Esteroles	15
2.5 Triterpenos	18
III. PARTE EXPERIMENTAL	20
3.1 Material Vegetal	20
3.2 Análisis Cromatográficos	20
3.3 Determinación de las constantes físicas [punto de fusión (p.f)], espectroscópicas (IR, RMN ¹ H) y espectrométricas (EM) de los productos obtenidos .	21
3.4 Obtención de los extractos	23
3.5 Fraccionamiento del extracto hexánico	24
3.6 Fraccionamiento del extracto de diclorometano	26
3.7 Fraccionamiento del extracto metanólico	28
3.8 Evaluación de los niveles de glucosa	33
3.8.1 Estudio en ratas normoglucémicas	34
3.8.2 Estudio en ratas diabéticas	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1 β -Sitosterol	42
4.2 α -amirina	43
4.3 β -amirina	44
4.4 Taraxasterol	45
4.5 Aceatos de α y β - glucosa	46

4.6 α -spinasterol	48
4.7 Inositol	50
4.8 Ácido p-hidroxibenzoico	53
4.9 Hidroximetil-furfural	55
4.10 Evaluación de los niveles de glucosa	58
4.10.1 Efecto de los extractos metanólico y acuoso de <i>Cucurbita ficifolia</i> en ratas normoglucémicas.	58
4.10.2 Efecto de los niveles de glucosa después de la administración de la glibenclamida y diferentes dosis de compuesto aislado de <i>C.ficifolia</i> . en ratas normoglucémicas.	59
4.10.3 Efecto de los niveles de glucosa después de la administración de la glibenclamida y diferentes dosis del compuesto de <i>C.ficifolia</i> . en ratas diabéticas.	61
V. CONCLUSIONES	65
VI. BIBLIOGRAFÍA	68

RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad que ha ido en aumento en todo el mundo. En las últimas dos décadas, ha aumentado el número de personas diagnosticadas con diabetes en particular la de tipo II (90-95%). En todo el mundo, la prevalencia de diabetes se estima que pasará de 2.8% en 2000 a 4.4% en 2030 (es decir, de 171 a 366 millones de personas), además del incremento en silencio de la "prediabeticos". Este aumento ha ido de la mano con un aumento marcado de la obesidad, como resultado de un cambio en el modo de vida tradicional a la moderna, acompañado en casi todas las poblaciones por un cambio en los hábitos de nutrición impulsando a la desnutrición (es decir, dieta rica en grasas, comida chatarra y comida rápida) y una baja actividad física.

La obesidad es una próxima epidemia que se está convirtiendo en un grave problema de salud en varios países, México es uno de los países más destacados en el mundo. Las estadísticas recientes indican que el 10,75% (5,5 millones de personas) de la población mexicana sufre de algún tipo de diabetes. El Departamento de Salud de México está tratando de resolver el problema mediante la prevención, la educación, y estrategias terapéuticas. Sin embargo, la diabetes sigue representando un grave problema de salud pública con repercusiones en la hipertensión y otras enfermedades cardiovasculares. Varias investigaciones sobre las plantas utilizadas en la medicina popular se han centrado en la búsqueda de productos naturales con uso potencial en el tratamiento de la diabetes. En la medicina tradicional mexicana, varias especies pertenecientes a la Cucurbitacea han sido utilizados para el tratamiento de la diabetes mellitus, entre ellos, el sector de las frutas Cucurbita ficifolia (chilacayote). Un trabajo farmacológico realizado anteriormente ha demostrado que el jugo de la fruta de esta especie disminuye los niveles de glucosa en sangre en personas con diabetes tipo II, pero, de nuestro conocimiento a lo mejor, no existen sobre el sector de las frutas estudios fitoquímicos.

Sobre la base de los resultados anteriores, se decidió llevar a cabo el estudio de "chilacayote" el sector de las frutas, lo que resultó en el aislamiento de los esteroides ya conocidos en otras especies de la familia, tales como el β -sitosterol, α -spinasterol, así como, triterpenos pentacíclicos como la α -amirina, β -amirina y taraxasterol. Además el ácido p-hidroxibenzoico, hidroximetil-furfural y D-chiro-inositol también fueron aislados.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disease that has been increasing worldwide. In the past two decades, there has been an explosive increase on the number of people diagnosed with diabetes particularly of type II (90-95%). Worldwide, diabetes prevalence is estimated to rise from 2.8% in 2000 to 4.4 % in 2030 (i.e., from 171 to 366 million people), besides the silent increase of “prediabetics”. This increase has gone hand-in-hand with a marked increase in obesity, as a result in a change in the way of life from traditional to modern, accompanied in almost all populations by a change in nutrition habits driven to malnutrition (i.e., higher fat diet, junk food and fast-food) and low physical activity.

Obesity is an upcoming epidemic that is becoming a serious health problem in several countries, Mexico being one of the highest-ranking countries in the world. Recent statistics indicate that 10.75% (5.5 million people) of the Mexican population suffer of some type of diabetes. The Mexican Health Department is trying to address the problem by prevention, education, and therapeutic strategies. Nevertheless, diabetes still represents a serious public health problem with implications in hypertension and other cardiovascular diseases.

Several investigations on plants used in folk medicine have been focused on finding natural products with potential use in the treatment of diabetes.

In Mexican traditional medicine, several species belonging to the Curcubitaceae have been used to treat diabetes mellitus, among them, *Cucurbita ficifolia* fruit (chilacayote). A previous pharmacological work has shown that the juice from the fruit of this species decreases blood glucose levels in people with type II diabetes, but, to the best of our knowledge, there are no studies on the fruit phytochemicals.

Based on the above results, we decided to undertake the study of “chilacayote” fruit, which resulted in the isolation of sterols already known in other species of the family, such as β -sitosterol, α -spinasterol, as well as, the pentacyclic-triterpenes α -amyrin, β -amyrin and taraxasterol. In addition *p*-hydroxy-benzoic acid, hydroxymethyl-furfural and D-chiro-inositol were also isolated.



-----I. INTRODUCCIÓN-----

México es uno de los países más ricos en cuanto a recursos naturales se refiere, esto se debe a su situación geográfica, a la variedad de climas, a su compleja orografía y a su geología que genera una gran diversidad de nichos ecológicos, únicos en el mundo; y han dado como resultado una diversidad florística en la que prácticamente existen todas las formas descritas a nivel mundial.

Debido a los estudios Fitoquímicos, existe un gran interés en los metabolitos secundarios presentes en las plantas, muchos de los cuales han demostrado tener propiedades que les permiten ser usadas con fines terapéuticos, tal es el caso de ciertos esteroides y terpenos, algunos compuestos fenólicos y de diferentes tipos de alcaloides.^{1,2}

Nuestro país se ha destacado debido al conocimiento que se tiene del uso de las plantas medicinales, razón por la cual ahora se desea conocer más sobre estas plantas, esto es conocer su composición química para determinar si poseen las propiedades curativas que se les atribuyen, y tratar de obtener los principios activos responsables de dichas propiedades.³

La utilización de plantas como agentes terapéuticos se ha mantenido a lo largo del tiempo en nuestro país como parte fundamental de la medicina tradicional que los grupos étnicos utilizan y que forma parte de su acervo cultural.

El valor de las plantas como fuentes de agentes medicinales se encuentran asociado a sus constituyentes químicos, específicamente a los metabolitos secundarios responsables de su actividad biológica. Entre los metabolitos secundarios con actividad farmacológica demostrada se encuentran muchos alcaloides, terpenos, glicósidos, flavonoides y lignanos.⁴

Una de las estrategias en la búsqueda de constituyentes bioactivos consiste en aprovechar los conocimientos etnobotánicos y etnomédicos, basándose en las investigaciones sobre el uso tradicional de las plantas en las poblaciones indígenas.^{5,6}

Por tal motivo se analizó el fruto de la especie *Cucurbita ficifolia* (chilacayote) en el Instituto de Química de la UNAM, para conocer su composición química y determinar la actividad que popularmente se le atribuye a esta planta como hipoglucemiante.

OBJETIVO

Determinar cuales extractos del fruto de *Cucurbita ficifolia* (Chilacayote) poseen actividad hipoglucemiante así como aislar y determinar la estructura de los compuestos responsables de dicha actividad y con ello contribuir al conocimiento de una especie empleada en la medicina tradicional mexicana.

ESPECIFICO

Aislar e identificar los principales constituyentes químicos presentes en *C.ficifolia*, utilizando técnicas cromatográficas (CC, CCF, CCFp) y espectroscópicas y espectrométricas usuales (UV, RMN-¹H, EM)

Observar y comparar la actividad hipoglucemiante del extracto metanólico, acuoso del fruto de *Cucurbita ficifolia* y la de los compuestos aislados del mismo.

-----PARTE TÉORICA-----

La *Cucurbita ficifolia* es comúnmente usada en medicina tradicional, como remedio contra la diabetes, En algunas partes de Asia, África y Sudamérica, se le menciona como “insulina vegetal”.⁷ Estudios previos han descrito la actividad hipoglucémica de la *Cucurbita ficifolia* en animales y en el hombre, sin embargo sólo algunos de los componentes activos de la planta han sido identificados.⁸

2.1 *Cucurbita ficifolia* (chilacayote)

La especie *Cucurbita ficifolia* pertenece a la familia de las cucurbitáceas, que son plantas a menudo trepadoras con flores por lo común unisexuales, la familia comprende unas 760 especies; los géneros principales son: *Momordica*, *Luffa*, *Bryonia*, *Citrullus*, *Cucumis*, *Lagenaria*, *Cucurbita*, *Sechium*, *Chiclanera*. El género *Cucurbita* comprende de 12-14 especies, las cuales son: *C. argirosperma*, *C. cordata*, *C. digitata*, *C. ecuadorensis*, *C. ficifolia*, *C. foetidissima*, *C. lundelliana*, *C. máxima*, *C. moschata*, *C. pepo*, *C. okechobeensis*, *C. palmata*, *C. pedatifolia*, *C. radicans*, *C. xscarbidifolia*.⁹

La especie *C. ficifolia* también es conocida como: “calabaza de la hoja del higo”, “calabaza malabar”, “chilacayote” (México, Guatemala), “lacayote” (Perú, Bolivia, Argentina); “chiverri” (Honduras, Costa Rica), “Victoria” (Colombia). Su origen y lugar de domesticación sigue siendo desconocidos, sin embargo algunos autores han sugerido América del Sur y más específicamente, la región de los Andes.

El cultivo de *C. ficifolia* se extiende de México a la Argentina y a Chile. Su arribo a Europa (Francia, Portugal) y a Asia (India) comenzó al parecer en los siglos XVI y XVII en que su fruto alcanzó al Viejo mundo desde América del Sur. Desde entonces su cultivo se ha extendido a muchas otras partes del mundo (Alemania, Francia, Japón y las Filipinas).¹⁰

En algunas regiones de México, tales como la Mixteca Alta en Oaxaca, se ha encontrado que, además del cultivo durante la estación de lluvias, crece y se cosecha durante la estación seca.

El uso principal del “chilacayote” es como alimento, la pulpa de la fruta madura se utiliza para preparar bebidas alcohólicas, se emplea para la confección de “cabello de ángel”, un dulce elaborado, acaramelando las fibras de la pulpa con azúcar y canela o corteza de limón. Las semillas mezcladas con miel son el ingrediente principal de un típico postre de la región de Chiapas conocido como “palanqueta”¹¹

El valor alimenticio más importante de este fruto se encuentra en las semillas que proporcionan proteínas, una cantidad moderada de carbohidratos y un contenido bajo de vitaminas y minerales.¹²

El fruto de la *C. ficifolia* contiene 90% de humedad 6.5% de fibra y 1.2% de proteínas. 17mg de Ca, 0.6mg de Fe, 7mg de ácido ascórbico y 0.03mg de tiamina, por kilogramo de peso seco, según los datos de la literatura.¹³



Fig. 1. Chilacayote” *Cucurbita ficifolia* proveniente del estado de Oaxaca, Méx.

Varios trabajos farmacológicos efectuados con los extractos de los frutos de esta planta, han demostrado su acción para disminuir los niveles de glucosa en el torrente sanguíneo; después de administrar, tanto por vía oral como por vía intraperitoneal, los extractos de la planta en animales de laboratorio y pacientes humanos.¹⁴

A pesar del interés que ha suscitado la actividad hipoglucemiante del fruto de la *Cucurbita ficifolia* no existe ningún estudio fitoquímico, razón por la cual se decidió llevar a cabo el presente estudio. Este se realizó con frutos obtenidos en el mercado de la ciudad de Oaxaca, Méx., cuyos frutos son grandes ovalados (como se muestra en la fig.1). Estos se rebanaron en porciones delgadas y se dejaron secar a temperatura ambiente. Del material seco y molido se prepararon extractos de hexano, diclorometano y de metanol.

Es interesante señalar, que en un trabajo reciente se analizaron las hojas, tallos, raíces, el pericarpio y las semillas de los frutos de 12 géneros de la familia Cucurbitaceae y de los cuales fueron identificados 44 esteroides lo que muestra la riqueza de la familia en estos compuestos.¹⁵

Sin duda, los estudios han enriquecido el conocimiento sobre las Cucurbitaceae, ya que recientes estudios sobre estas plantas han mostrado que tienen propiedades antihipertensivas, antitumorales, antibacterianas, antiparásitos intestinales, antiinflamatorias y analgésicas, aparte de las más conocidas como hipoglucemiantes,¹⁶ pero creemos que es necesario y prioritario conocer los componentes químicos de ellas, que aunque son innumerables en las plantas, y algunos se encuentran en pequeñas cantidades, son importantes para así poder tener una explicación y quizás mejores resultados sobre su uso además de conocer un poco más de su naturaleza.

2.2 DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico de los carbohidratos, grasas y proteínas debido a una disminución en la producción de la insulina o a la resistencia a su acción.¹⁷ La diabetes es una enfermedad que se caracteriza por el aumento de la concentración de azúcar en la sangre (hiperglucemia) como efecto de la disminución o carencia de la secreción de la hormona “insulina” que es producida por el páncreas, y es la encargada de regular los niveles de glucosa en la sangre y así mantener correctamente la función metabólica.

Con el tiempo los altos niveles de glucosa en la sangre pueden dañar los vasos sanguíneos y el sistema nervioso, ocasionando problemas al sentido de la vista, úlceras en las extremidades que pueden llevar a la amputación de las mismas, deficiencia renal, incremento en el riesgo de daños al corazón, entre otros.¹⁸

En nuestro país la diabetes mellitus debió de existir desde los tiempos precolombinos, pero el incremento de los casos es notorio en el siglo XX; como causa probable de este aumento tenemos la conjunción de tres factores:

a) la carga genética intrínseca de nuestra población, que la hace susceptible a la diabetes no insulino dependiente, b) la inadecuada alimentación y c) el aumento en “la esperanza de vida”. Si consideramos que el padecimiento se da generalmente en la quinta década de vida y “la esperanza de vida” en nuestro país rebasó ese límite a principios de siglo, podremos entender el porqué del aumento de la enfermedad, sumando los factores ya mencionados y otros más.¹⁹

La diabetes tiende a incrementarse en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), es ya la primera causa de muerte en el ámbito internacional. En la actualidad hay más de 180 millones de personas con diabetes en el mundo y es probable que esa cifra se duplique para el 2030.²⁰

En México, esta enfermedad ocupa el primer lugar de defunciones anuales, con más de 60 mil muertes y 400mil casos nuevos al año.

Existen varios tipos de **diabetes**, la diabetes **tipo I**: En la cual el páncreas falla en la producción de insulina, esto se debe a una destrucción completa de las células β . Este tipo de diabetes se desarrolla principalmente en niños y adolescentes, pero se ha notado un incremento en etapas de la vida más avanzadas.

Diabetes tipo II: Resulta de la incapacidad del cuerpo para responder apropiadamente a la acción de la insulina producida por el páncreas. La causa primaria de los trastornos de las células β aún no se conoce. La diabetes tipo II es mucho más común y cuenta con alrededor del 90% de todos los casos de diabetes en el mundo. Esta ocurre frecuentemente en adultos pero se ha observado también un incremento en adolescentes.

Diabetes gestacional: Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa reconocida por primera vez durante el embarazo.

Otros tipos de diabetes se presentan en menos del 5% de todos los casos diagnosticados, entre ellos se encuentran el defecto genético en las células beta, resistencia a la insulina determinada genéticamente, enfermedades del páncreas causadas por defectos hormonales, por compuestos químicos o fármacos²¹.

Debido a que la **diabetes mellitus tipo II** es la enfermedad endocrina de mayor importancia en nuestro país, la población se encuentra en la búsqueda y uso de recursos vegetales que le permita controlar esta enfermedad.²²

2.3 PLANTAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DE LA DIABETES

Una de las enfermedades que afecta a la población mexicana es la **Diabetes Mellitus** en la cual pacientes y especialistas tradicionales unen sus esfuerzos en la búsqueda de plantas que presentan una actividad terapéutica para contrarrestarla.

Debido a este proceso de búsqueda, el número determinado de plantas usadas en el mundo, para tratar la diabetes es cercano a las 350, ya que cada comunidad va incorporando nuevas plantas, y por el proceso mismo de ensayo-error se van desechando las que no presentan actividad terapéutica, quedando con el tiempo aquellas con los mejores resultados²³. Corresponde a los investigadores actuales el colaborar con las personas enfermas para que estos recursos se amplíen.

En la herbolaria mexicana se describe reporta en la actualidad aproximadamente 150 plantas hipoglucemiantes, pero la población se encuentra en un proceso de búsqueda de nuevos recursos, esto es debido de que a partir de la década de 1950 se difunde

de una manera amplia a la población el conocimiento médico del mal, dando una causa y efecto; la gente lo llama “azúcar en la sangre”.²⁴

Si bien el tratamiento con plantas no debe sustituir de ningún modo el tratamiento médico con los respectivos fármacos, si puede ayudar a aumentar la eficacia de éste y mejorar la calidad de vida de las personas que padecen diabetes tipo II.

Entre las especies que se usan para tratar la diabetes, se encuentra la planta conocida como melón amargo (*Mormodica charantia*), cuyos frutos son utilizados para tratar la diabetes. Se ha dicho que esta cucurbitacea contiene un péptido el cual sería el responsable de los efectos hipoglucemiantes.

Se han aislado de la *M. Charantia* varios glucósidos, entre ellos la carantina y algunos glicósidos del β -sitosterol, ninguno de los cuales tiene actividad hipoglucemiante.

Mediante el fraccionamiento del extracto etanólico de esta planta se ha encontrado que existen dos fracciones activas: una que ejerce un rápido efecto hipoglucémico y otra de efecto retardado las cuales están en estudio.²⁵

A continuación se presenta un listado con algunas de las plantas utilizadas para el tratamiento de la diabetes. Se muestra, la parte activa, la sustancia activa, y el modelo farmacológico que se usó para comprobar su efecto.^{26, 27}

Planta	Parte activa	Sustancia activa	Modelo Farmacológico
<i>Cucurbita ficifolia</i>	Frutos	D-Chiro-Inositol	Rata diabética
<i>Aconitum carmichaeli</i>	Raíz	Aconitano A (polisacárido)	Ratón diabético
<i>Allium cepa</i>	Bulbo	Sulfuros de alquilo	Conejo diabético
<i>Allium sativum</i>	Bulbo	Sulfuro de alquilo	Conejo normales
<i>Amorphophallus konjac</i>	Tubérculo	Glucomanano (polisacárido)	Pacientes con diabetes 1 y 2
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	Rizoma	Anemarán A (polisacárido)	Ratón diabético
<i>Atractylodes japonica</i>	Rizoma	Atractan A (polisacárido)	Ratón diabético
<i>Bighlia sapida</i>	Fruto	Ipoglicinas H	Pacientes con

Planta	Parte activa	Sustancia activa	Modelo Farmacológico
			diabetes 1 y 2 ratas normales
<i>Catharanthus roseus</i>	Hojas	Alcaloides	
<i>Coccinia indica</i>	Hojas	Alcaloides no identificados	Pacientes con diabetes 2
<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Semillas	Galactomanano (policasacárido)	Pacientes
<i>Dioscorea japonica</i>	Rizoma	Dioscorano (policasacárido)	ratón diabético
<i>Eleutherococcus senticosus</i>	Raíz	Eleuteranos (policasacárido)	ratón diabético
<i>Emericella quadrilineata</i>	Fruto	Derivado del ácido aminobutírico	ratón diabético
<i>Ephedra distachya</i>	Hojas	Efedrano (policasacárido)	ratón diabético
<i>Ficus bengalensis</i>	Corteza	Glucósido no caracterizado	Roedores normales
<i>Galega officinalis</i>	Hojas	Guanidina	Pacientes con diabetes tipo 2
<i>Ganoderma lucidum</i>	Fruto	Ganoderano A (policasacárido)	ratón diabético
<i>Gymnema sylvestris</i>	Hojas	Ácidos gimnénicos	conejo diabético Pacientes con diabetes I y 2
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	Raíz	Litospermano (policasacárido)	ratón diabético
<i>Lupinus termis</i>	Semillas	Alcaloides quinolizidínicos	rata diabética
<i>Mormodica charantia</i>	Hojas	Glicósido no caracterizado	Pacientes con diabetes 2
<i>Mormodica foetida</i>	Hojas	Glicósido no caracterizado	Pacientes con diabetes 2
<i>Oryza sativa</i>	Raíz	Oryzarano (policasacárido)	ratón diabético
<i>Panax ginseng</i>	Raíz	Panaxanos (policasacáridos)	ratón diabético
<i>Panax quinquefolium</i>	Raíz	Quinquefolano (policasacárido)	ratón diabético
<i>Saccharum officinarum</i>	Tallo	Saccharano A (policasacárido)	ratón diabético
<i>Trigonella foenumgreacum</i>	Semillas	Trigonelina	Animales diabéticos

2.4 ESTEROLES

Los esteroides se encuentran ampliamente distribuidos en los reinos animal y vegetal; y se les encuentra en forma libre (También llamados agliconas esteroides), como ésteres o como glicósidos. Todos contienen un núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno y presentan un grupo hidroxilo en el carbono 3. La mayoría de esteroides naturales poseen una cadena lateral de 8 a 10 átomos de carbono y un enlace doble en el C-5 y a veces un segundo en la cadena lateral.²⁸ En los animales superiores (Incluido el hombre) se encuentra principalmente el colesterol, el cual es un constituyente importante de membranas y precursor de sustancias fisiológicamente importantes (Hormonas, Ácidos biliares, Vitamina D, etc.). En las plantas superiores se encuentran principalmente los denominados fitosteroides: β -Sitosterol, Campesterol y Estigmasterol. Los cuales se aíslan, generalmente de la fracción insaponificable de los extractos que contienen lípidos.²⁹

La gran mayoría de esteroides conocidos son sólidos cristalinos incoloros, solubles en disolventes orgánicos (Cloroformo, Benceno, etc.), menos solubles en alcoholes de bajo peso molecular, y que funden sin descomponerse (En forma libre o esterificada). Presentan además actividad óptica debido a los carbonos asimétricos que poseen. Los esteroides se pueden recrystalizar en metanol, formando cristales en forma de agujas brillantes incoloras. Los que presentan dobles enlaces conjugados son de color amarillento y tienden a descomponerse por acción de la luz como por ejemplo los esteroides con insaturaciones en C-5 y C-7, los cuales son susceptibles a la reacción de oxidación fotoquímica.³⁰

Los esteroides naturales conocidos presentan las siguientes características estructurales:

- a. Los enlaces dobles en el núcleo se presentan principalmente en C-5, C-7, C-8 y C-9.

- b. Los enlaces dobles en la cadena lateral se presentan especialmente en C-22, y con menor frecuencia en C-24 y C-25.
- c. Además de los grupos metilos 18, 19, 21, 26 y 27, es frecuente encontrar grupos metilo en C-24, menos frecuente en C-4.
- d. La cadena lateral presenta grupos alquilo (metilo, etilo, isopropilo, etc.) principalmente en C-24.
- e. Algunos organismos poco evolucionados (invertebrados marinos, orquídeas, etc.) presentan esteroides con modificaciones en la cadena lateral (anillos ciclopropano, dobles enlaces alénicos, metilaciones en C-26 y C-27, ausencia del C-25, etc.), y con núcleos modificados.³¹

En la figura 2 se muestra la biogénesis de los esteroides en las plantas.

Una de las funciones de los esteroides en las plantas es el aumento de la viscosidad y estabilidad de las membranas plasmáticas, son conocidos más de 150 esteroides en plantas.³²

Algunos esteroides son:

- Estigmasterol: presente en toronjas, papas y tomates.
- Sitosterol: en toronjas y albahaca
- Citrostadienol: en la corteza de los cítricos y en las hojas de Papa.
- Fucoesterol: en las algas pardas.

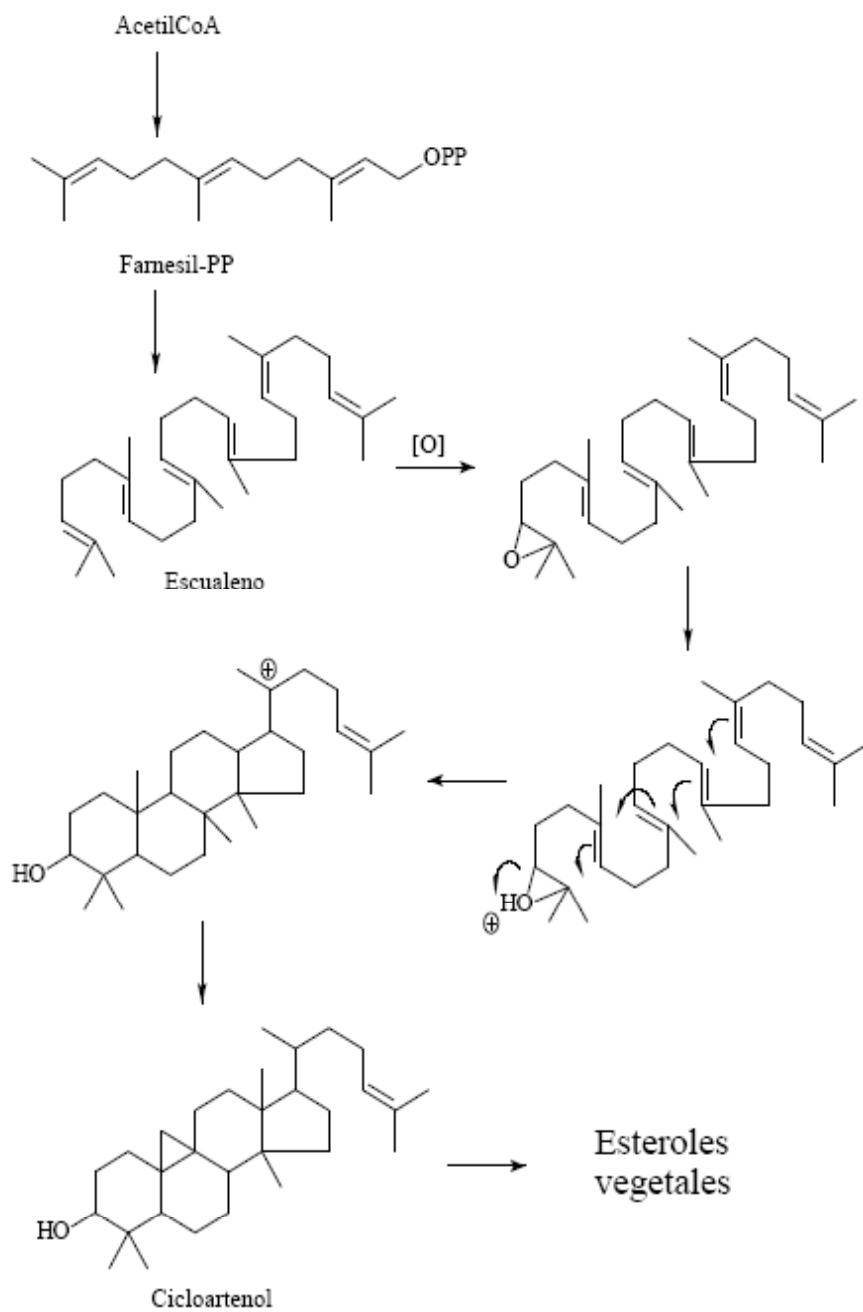


Figura 2. Esquema biogénico para los esteroides

2.5 TRITERPENOS

Los triterpenos son una familia de terpenos que contienen 30 átomos de carbono, procedentes de la incorporación biosintética de seis unidades de isoprenilo, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estos productos se encuentran ya sea en su estado libre o combinados con azúcares (glicósidos). Se han propuestos diversos métodos de clasificación, de éstos destaca el que los divide por familias tomando en cuenta el número de anillos que los conforman (acíclicos, tetracíclicos y pentacíclicos) y dentro de estas familias se encuentran subclasificados por grupos (α -amirina, β -amirina, lupeol, etc)³³

Hoy en día se conocen más de 40 esqueletos triterpénicos básicos que pueden ser agrupados en esta clasificación y cada año se reportan nuevos.³⁴

La presencia de estos triterpenos es habitual en las plantas superiores, pero aparecen también en animales superiores y en hongos y bacterias.

Los triterpenos han tomado relevancia últimamente debido al amplio espectro de actividades biológicas que presentan. La función fisiológica de estos compuestos en las plantas está relacionada con la defensa frente a patógenos y herbívoros, por lo tanto, esos triterpenos podrían actuar contra ciertos patógenos causantes de enfermedades en humanos y animales. Así, se han descrito para este tipo de compuestos diversas actividades biológicas, como antibacterianos, antifúngicos, antiinflamatorios, expectorantes, antihemorroidales, acción adaptógena (efecto que puede resultar estimulante, tonificante y antiestrés) y antitumorales.³⁵

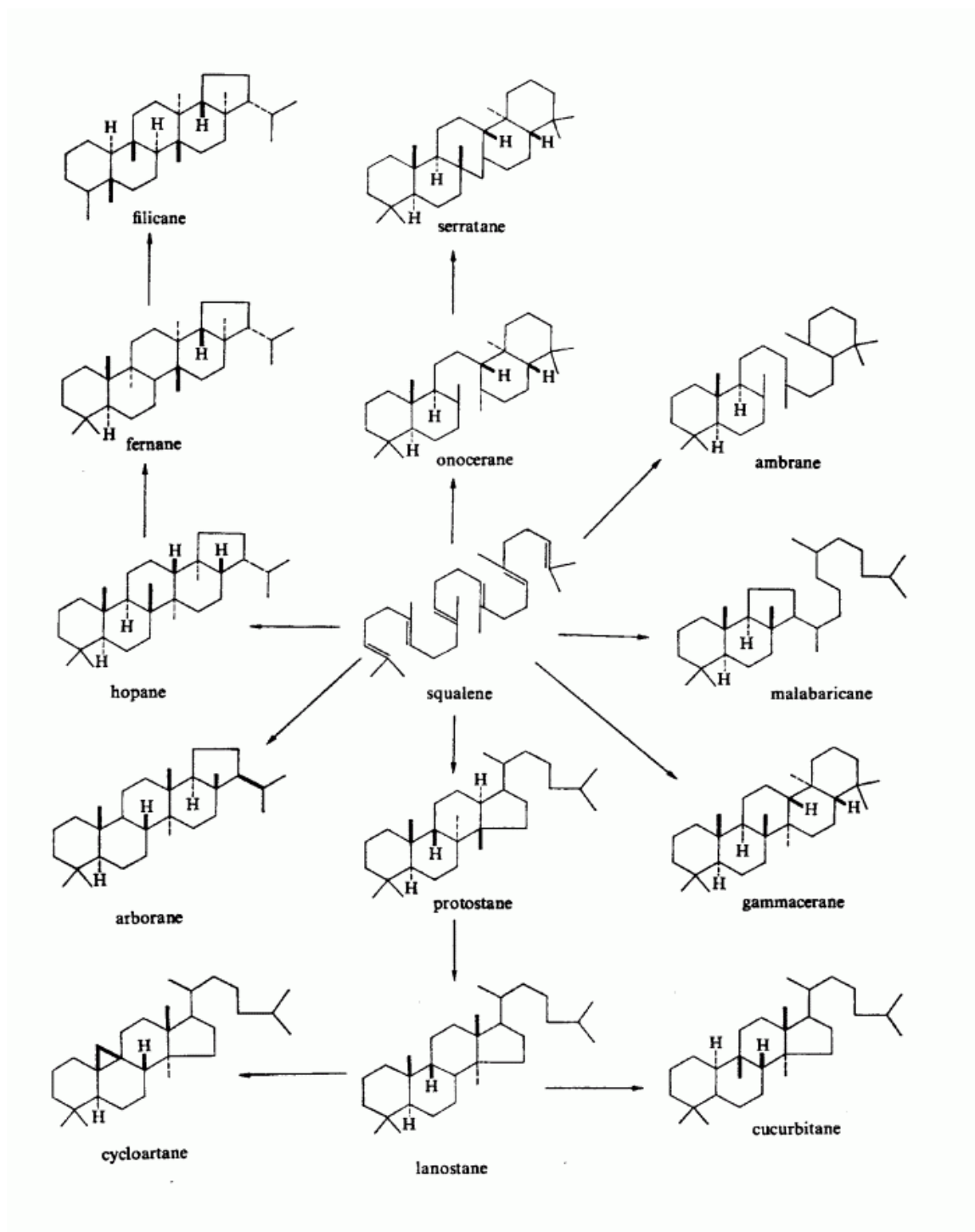


Figura 3. Esquema de correlación de los principales esqueletos de triterpenos

-----PARTE EXPERIMENTAL-----

3.1 MATERIAL VEGETAL

El fruto estudiado de la especie *Cucurbita ficifolia* (Chilacayote) se adquirió en el mercado de la ciudad de Oaxaca, México. El material se cortó en rebanadas delgadas para secarlas a temperatura ambiente bajo sombra, una vez seco se molió en un molino Willey Modelo 4.

3.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

Para las separaciones de los compuestos presentes se utilizaron los siguientes métodos: cromatografía en capa fina (CCF), cromatografía en placa fina preparativa (CCFp) y cromatografía en columna (CC).

Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) se efectuaron de acuerdo con las técnicas convencionales, utilizando placas de aluminio (20 x 20 cm), recubiertas con gel de sílice (sílica gel 60 GF₂₅₄, Merck) de 0.25 mm de espesor.

Las cromatografías en columna abierta (CC) se realizaron en columnas de vidrio empacadas con gel de sílice para cromatografía en capa fina. Para las cromatografías en capa fina preparativa (CCFp) se emplearon placas de vidrio de 20 x 10 cm y de 20 x 20 cm, recubiertas de gel de sílice 60 F₂₅₄ Merck de 0.25mm, 0.5mm y 1mm de espesor.

El revelado de las placas se llevó a cabo mediante una lámpara de luz UV Spectroline modelo CX-20 a λ 254 y 365 nm, en algunos casos se empleó una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N, seguido de calentamiento a 120°C aproximadamente, por 1 ó 2 minutos en una parrilla eléctrica.

3.3 DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES FÍSICAS [PUNTO DE FUSIÓN (p.f)], ESPECTROSCÓPICAS (IR, RMN¹H) Y ESPECTROMÉTRICAS (EM) DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher- Johns en grados Celsius (° C) y las temperaturas no están corregidas.

La determinación de los espectros en el IR se realizó en un espectrómetro Bruker Tensor 27-FT en película ó en disolución clorofórmica.

Para los espectros de RMN ^1H se utilizaron espectrómetros analíticos Bruker-Avance (300 MHz), Jeol Eclipse 300, Varian Unity 300 en disolución de cloroformo deuterado (CDCl_3) agua deuterada (D_2O). Los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm, referidos al Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los espectros de masas se determinaron mediante la técnica de impacto electrónico (IE) en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA.

Los disolventes utilizados se destilaron previamente para evitar alguna contaminación al realizar las purificaciones.

3.4 OBTENCION DE LO EXTRACTOS

El fruto (sin semillas) de la *Cucurbita ficifolia* seco y molido (1.5 kg), se extrajo inicialmente con hexano, el cual dejó un residuo de 14.5g; posteriormente, el material restante se sometió a otra maceración obteniendo el extracto de diclorometano que dejó un residuo de 12.65g, por último se hizo una maceración con metanol obteniéndose un residuo de 20.9g. En el siguiente esquema se resume el procedimiento experimental.

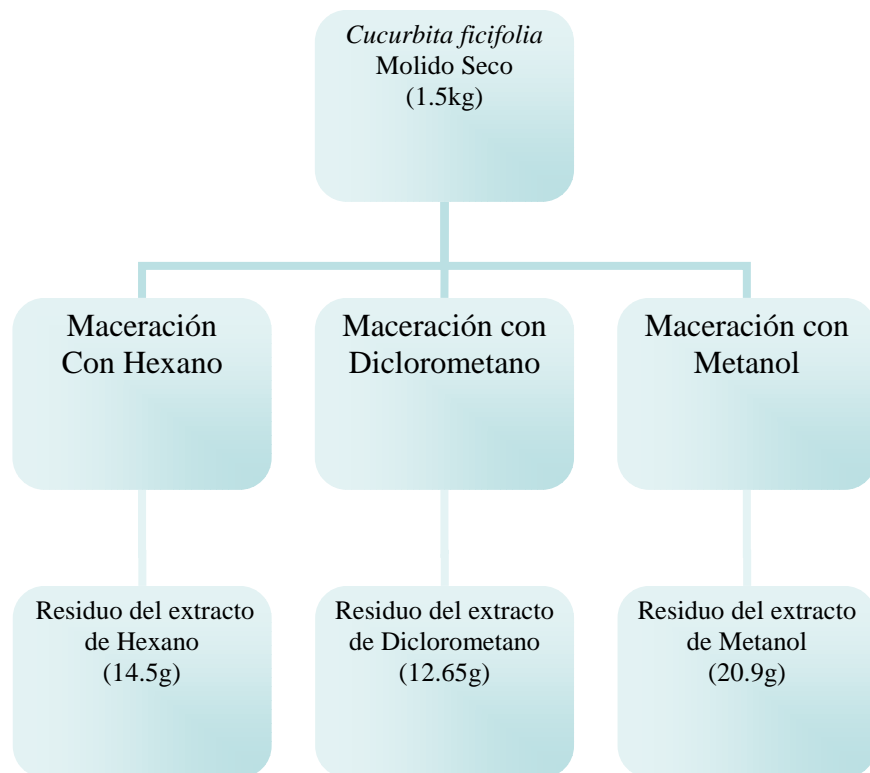


Diagrama de flujo del tratamiento del fruto de la *Cucurbita ficifolia* "chilacayote"

El extracto acuoso se obtuvo de otro lote de "Chilacayote" el cual se rebanó y se molió en una licuadora, posteriormente se filtró, el filtrado se liofilizó, este liofilizado se uso en las pruebas biológicas, ya se han hechos estudios previos a los extractos acuosos por F.J. Alarcón-Aguilar.³⁶

3.5 FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO HEXÁNICO

A 7.5g del extracto hexánico se disolvió en diclorometano dando paso a la formación de un precipitado, que se filtró para obtener la mezcla (M-I).

(M-I).Sólido blanco: p.f= 80-82°C

IR (ν_{\max})= 3882, 2917, 1465 cm^{-1}

IE(70eV): m/z= 508, 480, 452, 438, 424, 409, 381, 325, 297, 241, 227, 195.

Las aguas madres de (M-I) 5.0802g se sometieron a una cromatografía en columna (A). Se emplearon como eluyentes, hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol en orden creciente de polaridad, se obtuvo una fracción por cada disolvente: (A-1 – A-4).

De la fracción (A-1), se aislaron 233.2mg de una mezcla sólida blanca (M-II) con p.f= 40-43°C.

IR (ν_{\max})= 2917, 1463, 1377 cm^{-1}

IE (70eV) m/z= 450 ($\text{C}_{32}\text{H}_{66}$)

Cromatografía en columna de la fracción (A-2)

La fracción A-2 eluída con diclorometano (3.36g) se separó por cromatografía en columna (B). Se utilizaron como eluyentes, mezclas de hexano- diclorometano, de polaridad creciente, lavándose la columna con metanol. Se obtuvieron 27 fracciones, las cuales se analizaron por medio de cromatografía en capa fina (CCF), y se reunieron las que presentan una composición similar.

ELUYENTE Hexano-CH ₂ Cl ₂	FRACCIONES (B)	RESULTADOS
100 : 0	B-1-B-3	-----
100 : 0	B-4-B-6	ÁCIDO DE CADENA LARGA
90 : 10 80 : 20	B-7-B-12	MEZCLA COMPLEJA DE TRITERPENOS
70 : 30	B-13-B-16	MEZCLA DE ALCOHOLES
60 : 40	B-17-B-23	ALCOHOLES, ESTEROL
50 : 50	B-24	-----
50 : 50	B-25	-----
0 :100	B-26-B-27	-----

----- no se analizaron por que la cantidad obtenida fue mínima y presentaban mezclas complejas

7g del extracto hexánico fue disuelto en CH₂Cl₂ que se lavó con una solución de NaHCO₃ al 5%, se separaron la fase acuosa y la fase de CH₂Cl₂. La fase acuosa se acidificó con HCl al 10% (hasta pH= 5) y se extrajo con CH₂Cl₂, separándose de esta manera los compuestos ácidos y neutros.

La fracción neutra se separó utilizando una columna empacada con sílica gel obteniéndose de ésta, una fracción eluída con diclorometano de la que se aislaron 30mg de la mezcla (M-III).

Presentando las siguientes señales espectroscópicas y espectrométricas:

(M-III) Sólido cristalino, p.f.= 48-50°C

IR (ν_{\max})= 3010, 2917, 2850, 2674, 1704, 1466, 1295 cm^{-1} .

IE (70 eV) m/z= 480, 466, 452, 424, 410, 396, 368, 354, 340, 312, 297, 284, 256, 239, 213, 185, 171, 157, 129, 111.

3.6 SEPARACIÓN DEL EXTRACTO DE DICLOROMETANO

El extracto de diclorometano (12.65g) se separó por medio de una cromatografía en columna eluída con mezclas de hexano-diclorometano de polaridad creciente. Obteniendo de la fracción 1 un compuesto sólido (IV), presentando las siguientes señales en el infrarrojo y espectro de masas (IR, EM) lo que permitió identificar al triacontanol (IV).

Triacontanol IV. Sólido blanco: p.f.= 48-50°C

IR (ν_{\max})= 3448, 2918, 1215 cm^{-1}

IE (70eV) m/z= 438 $[\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}]^+$, 379, 350, 323, 309, 281, 267, 239, 225, 197, 183, 169, 141, 127, 113.

Obtención del dotriacontano

De la fracción 10 se aisló un sólido con punto de fusión 70-71° que se identificó tentativamente como dotriacontano (V).

Dotriacontano (V). Sólido blanco: p.f.= 70-71°C

IR (ν_{\max})= 2916 y 2848, 1464 y 1377 cm^{-1}

IE (70eV) m/z= $[\text{M}^+]$ 448 $[\text{C}_{32}\text{H}_{66} (-2\text{H})]^+$, 420, 392, 336, 321, 293, 279, 251, 237, 209, 195, 167, 153, 139, 111.

Obtención de esteroides y triterpenos

De las cromatografías en columnas realizadas a los extractos de hexano, diclorometano de las se obtuvieron sólidos cristalinos y blancos que se identificaron como β -sitosterol (VI), α -amirina (VII), β -amirina (VIII) y taraxasterol (IX) su identidad se confirmó mediante comparación por cromatografía en capa fina (CCF) con muestras auténticas.

β -Sitosterol (VI)

Sólido blanco: p.f.= 128-132°C

IR (ν_{\max})= 3410, 2925, 1483, 1390, 1050, 470 cm^{-1}

414 [M⁺], 399, 396, 381, 355, 329, 303, 273, 229, 255, 213, 55

Las señales de ¹HRMN se observan en la (tabla.1)

α -Amirina (VII)

Sólido: p.f.= 183–184°C

IR (película) ν_{\max} : 3512, 3058, 1638 y 822 cm^{-1}

IE, m/z: 426 [C₃₀H₅₀O, M⁺], 41, 408, 218, 207, 203 y 198.

Las señales de ¹HRMN en la (tabla. 2)

β -amirina (VIII)

Sólido: p.f.= 197–198°C

IR (película) ν_{\max} : 3510, 3055, 1636 y 820 cm^{-1}

IE, m/z: 426 [C₃₀H₅₀O, M⁺], 411, 408, 393, 257, 218, 207, 203 y 189.

Las señales de ¹HRMN en la (tabla. 2)

Taraxasterol (IX)

Sólido: p.f.= 225-227°C

IR (ν_{\max}) 3450, 3070, 2970, 2948, 2865, 1640, 1480, 1460, 1450, 1385, 1372, 1042, 880 cm^{-1}

IE, m/z: $[\text{M}]^+$ 426, 411, 408, 229, 218, 207, 189.

Las señales de resonancia se describen en la (tabla. 2)

3.7 FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO METANOLICO

Identificación de azúcares

ACETATOS DE α y β GLUCOSA (X, XI)

Del extracto metanólico se tomaron 2g que se acetilaron con piridina y anhídrido acético, una vez acetilado se le realizó una cromatografía en columna empacada con sílica gel, se eluyó con disolventes de polaridad creciente (hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol).

La fracción de diclorometano se separó por cromatografía en capa fina preparativa, obteniendo la fracción (A), la cual se separó nuevamente por cromatografía en capa fina preparativa dando la fracción (Aa) esta se acetilo y posteriormente se analizó por espectroscopias (IR, $^1\text{HRMN}$) y espectrometría (EM).

IR (ν_{\max})=3520, 3046, 2991, 2950, 1754, 1714, 1414, 1237, 1006, 918, 862.

IE m/z: $[\text{M}]^+$ 391, 373, 347, 331, 317, 289, 275, 242, 215, 200, 169, 157, 140, 115, 98, 73, 69, 43, 28, 15.

Obtención del α -espinasterol (XII)

El resto del extracto de metanol se separó en ácidos y neutros, siguiendo la técnica ya mencionada. Se obtuvieron 698.5mg de la fracción ácida.

La fracción neutra, se separó mediante cromatografía en columna de sílica gel eluída con disolventes de polaridad creciente, obteniéndose una fracción de (hexano (391.6mg), una fracción de diclorometano (324.1mg), una fracción de acetato de etilo (220.6mg) y otra de metanol (478.6mg)).

La fracción de diclorometano se separó por cromatografía en capa fina preparativa (1mm de espesor) obteniendo las siguientes fracciones en orden de polaridad decreciente:

D-1(3.8mg), D-2(129.4mg), D-3(16.8mg), D-4(26.9mg), D-5(92.3mg), D-6(21.5mg).

La fracción D-5 (92.3g) se separó por cromatografía en capa fina preparativa, obteniéndose un sólido el α -espinasterol (XII).

(XII). Sólido p.f.= 123-125°C

IR (ν_{\max})= 3422, 2929, 2854, 1711, 1463, 1379 cm^{-1}

IE,(70eV) m/z = [M^+] 456, 442, 414, 399, 369, 340, 327, 314, 300, 271, 255, 229, 213, 173, 147, 107, 81.

El análisis de la espectroscopia de $^1\text{HRMN}$ se encuentra (en la tabla 1)

Obtención del D-quirositol (XIII)

La fracción acuosa obtenida de la separación de ácidos y neutros del extracto metanólico se liofilizó (L-1) posteriormente se disolvió en metanol, tomándose 20 ml para cromatografía en columna, utilizando tonsil para empacarla, obteniendo el D-quirositol (XIII).

D-quirositol (XIII). Sólido p.f= 245-250°C

IR (ν_{\max})= 3110, 2842, 2792 cm^{-1}

IE,(70eV) m/z=: 180 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^+$, 101, 73, 60, 45.

Dada la cantidad obtenida del compuesto no se pudo determinar su rotación óptica.

El punto de fusión fue comparado con una muestra auténtica.

Obtención del ácido p-hidroxibenzoico (XIV)

La fracción ácida del extracto metanólico, se separó por cromatografía en columna, eluida con mezclas de diclorometano-metanol. Obteniéndose el ácido p-hidroxibenzoico (XIV), analizándose por técnicas espectroscópicas y espectrométricas, una vez identificado se realizó una comparación con una muestra auténtica, se procedió a acetilarlo (XIVa) una vez obtenido el acetato se realizaron las pruebas biológicas.

Ácido p-hidroxibenzoico (XIV). p.f= 70-84°C

IR (ν_{\max})= 3210, 2743, 2801, 1710, 1080 cm^{-1}

IE (70eV) m/z= 138 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3]^+$

Las señales de RMN se presentan en (tabla 3)

Obtención del hidroximetil-furfural (XV)

Del liofilizado (L-1) del extracto de metanol, se tomaron 10ml que se fraccionaron por medio de una columna empacada con tonsil. Se obtuvo un compuesto semisólido, que se analizó por técnicas espectroscópicas y espectrométricas identificándose como hidroximetil-furfural (XV), confirmándose por medio de cromatografía de gases acoplada a masas, para lo que se usó una columna capilar empacada con 5% de fenilsilicona a un HP5 (fase estacionaria), en 1.0 (mm). Corrida a αT_1 30 $^\circ$ x 1min- 8 $^\circ$ x min, 300 $^\circ$ Cx 5min. Acoplado a un espectro de masas JEOL, JMS-GCMatell; GCMS SYSTEM, EM; IE 60 E.V.

Hidroximetil-furfural (XV).

IR (ν_{\max})= 3385 (OH), 3121, 2923, 2851, 1670 (CO), 1520, 1369, 1190, 1020, 774 cm^{-1}

IE (70eV) m/z = 126 [$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$] $^+$, 109, 97, 81, 69
Las señales de RMN se presentan en (tabla 3)

TABLA. 1 (δ ppm)

HIDROGENO	β -SITOSTEROL	α -ESPINASTEROL
1	1.81(m, 1H)	1.80(m, 1H)
3	3.52(tt, 10.4, 4.2, 1H)	3.59(tt, 10.8,4.5, 1H)
6	5.34(dd, 12, 8.5, 1H)	1.74(m, 2H)
7	1.67(m, 1H)	5.16(m, 1H)
9	1.63(m, 1H)	1.64(m, 1H)
14	1.82(m,1H)	1.80(m, 1H)
17	1.14(m, 1H)	1.24(m, 1H)
18	0.68(m,1H)	0.55(s, 3H)
19	0.80(m, 1H)	0.80(s, 3H)
21	1.03(s, 3H)	1.03(d, 6.5, 3H)
22	1.86(m, 1H)	5.16(dd, 15, 8.7, 1H)
23	---	5.02(dd, 15, 8.4, 1H)
25	1.56(m, 1H)	1.52(m, 1H)
26	0.82(d, 5.8, 3H)	0.80(d, 6.0, 3H)
27	0.85(d, 6.0, 3H)	0.85(d, 6.5, 3H)
29	0.83(m, 3H)	0.81(t, 7.5, 3H)

CDCl_3 , TMS, 300 MHz.

TABLA.2

HIDROGENO	α -AMIRINA	β -AMIRINA	TARAXASTEROL
3	3.22(1H, 4.3 (dd, 1H)	3.18(1H, 4.6)	3.20(1H, α)
12	5.24(m, 1H)	5.10(m, 1H)	
23	0.99(s, 3H)	1.01(s, 3H)	0.93(s, 3H)
24	0.81(s, 3H)	0.81(s, 6H)	0.86(s, 6H)
25	0.96(s, 3H)	0.96(s, 3H)	
26	1.02(s, 3H)	1.02(s, 3H)	0.97(s, 3H)
27	1.16(s, 3H)	1.09(s, 3H)	
28	0.84(s, 3H)		0.76(s, 3H)
29	0.88(s, 3H)	0.80(d, 3H)	1.03(s, 3H)
30	0.88(s, 3H)	0.91(d, 3H)	4.62(dd, 6.5, 4.2, 2H)

CDCl₃, TMS, 300 MHz.

TABLA. 3

HIDROGENO	ACIDO p-HIDROXIBENZOICO	HIDRO-XIMETIL-FURFURAL
1	11.0(1H, CO ₂ H)	-----
2	-----	6.577 (1H)
3	7.96(1H)	-----
4	6.94(1H)	7.37(1H)
5	5.0 (1H, OH)	2.82(1H); 4.63(3H)
6	6.94(1H)	9.6(1H)
7	7.96(1H)	

HIDROGENO	D-CHIRO-INOSITOL 300MHz (D₂O)	D-CHIRO-INOSITOL 500MHz (C₅H₅N)
1	3.97	4.97
2	3.70	3.99
3	3.53	4.24
4	3.53	4.20
5	3.70	3.94
6	3.97	4.52, 4.35

3.8 EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA

En la evaluación de los niveles de glucosa se emplearon ratas Wistar macho en un rango de peso de 220-250g, los animales se mantuvieron en foto períodos de 12hrs/12hrs luz-oscuridad, alimentados con dieta estándar (P21%-Harlan) y acceso libre de agua.

Tanto los compuestos aislados como la glibenclamida (fármaco prototipo) se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) y esta solución se mezcló con una solución al 0.5% de tween 20 en una relación v/v de 1:10 respectivamente.³⁷

Los compuestos se administraron por vía intraperitoneal (IP) en un volumen de 0.5ml/100g de peso.

En todos los grupos de ratas, antes de la aplicación del tratamiento, se midió la concentración de glucosa, lo cual se realizó a través de la obtención de una muestra de sangre de la vena caudal de la rata, ésta se depositó en tiras reactivas ACCU-Chek®, tomándose este valor como nivel de glucosa basal.

Posterior a la administración de los compuestos, se midieron los niveles de glucosa con las tiras reactivas ACCU-Chek®, tanto en las ratas normales como en las diabéticas, a diferentes intervalos de tiempo.

3.8.1 ESTUDIO EN RATAS NORMOGLUCÉMICAS

Se formaron grupos de 7-9 ratas designados como:

- a) **Grupo control:** el grupo control recibió como vehículo solución salina donde se probó el extracto acuoso, para probarse el extracto metanólico y el acetato del ácido p-hidroxibénzoico (XIVa) el grupo control recibió como vehículo mezcla: DMSO-solución al 5% de tween 20 en una relación v/v de 1:10.

- b) **Grupos tratados con el compuesto aislado y extractos:** a cada grupo de ratas (n=7) se les administraron diferentes dosis del compuesto (100, 200, 400 mg/kg) y para los extractos se probó la dosis 100 mg/kg.

- c) **Grupo tratado con glibenclamida:** se les administró una dosis de 10 mg/kg de peso.

3.8.2 ESTUDIO EN RATAS DIABETICAS

En este estudio se les indujo diabetes a las ratas por una sola inyección intraperitoneal (iP) de estreptozotocina (STZ) (Sigma, ST. Louis, USA) a la dosis de 50 mg/kg de peso.

La STZ fue disuelta en un buffer de citratos 90 mM y NaCl 10 mM ajustando el pH= 4.5. El grupo testigo se le administró solución salina.

Cinco días después de la inyección de STZ, los animales desarrollaron diabetes lo cual se corroboró midiendo el nivel de glucosa de la sangre tomada de la vena caudal de la cola del animal. Las ratas con niveles de glucosa igual o mayor a 250 mg/dl-1 se consideraron diabéticas.

Al igual que en el protocolo del estudio con ratas normoglucémicas, se emplearon grupos testigo, grupos tratados a diferentes dosis del acetato del ácido p-hidroxibenzoico (XIV-A) y el grupo tratado con glibenclamida.

Todos los datos fueron representados como promedio \pm error estándar de la media.

Se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y la prueba de Dunnet para hacer las comparaciones del nivel de glucosa basal respecto a los diferentes intervalos de tiempo. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

-----IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----

Diversos estudios farmacológicos se han realizado en distintas instituciones mexicanas sobre plantas medicinales en relación con la diabetes, estos trabajos los han desarrollado en los laboratorios del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) y en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), entre otros. En ellos utilizaron animales de laboratorio (ratas y conejos) e inclusive pacientes humanos obteniendo resultados positivos alentadores.

Entre las plantas cuya acción hipoglucemiante ha sido evaluada se encuentran varias especies de la familia de la cucurbitaceae, como es el caso de *Cucúrbita ficifolia*, llamada en México “chilacayote” y “cheverri” en Honduras y Costa Rica, cuyos extractos totales (jugo) mostraron resultados positivos.^{38, 39}

A pesar de lo anterior, no existen estudios químicos del fruto que es la parte que se usa para tratar la diabetes. Por esta razón se realizó el estudio químico del fruto. Los resultados se describen a continuación.

Del extracto de hexano se aisló una mezcla de alcoholes de cadena lineal de peso molecular elevado (M-I), (M-II) y una mezcla de ácidos de cadena lineal (M-III).

Del extracto de diclorometano (DCM-II) se obtuvieron el triacontanol (IV) y el dotriacontano (V) así como el β -sitosterol (VI), α -amirina (VII), β -amirina (VIII) y taraxasterol (IX).

Del extracto de metanol del fruto de la *Cucurbita ficifolia* se obtuvo el α -espinasterol (XII), también se aislaron D-qui-ro-inositol (XIII) y ácido p-hidroxibenzoico (XIV).

De la fracción ácida se aisló una pequeña cantidad del ácido p-hidroxibenzóico (XIV), que se acetilo para las pruebas biológicas (XIVa) de esta manera se probó su actividad, reduciendo los niveles de glucosa en sangre.

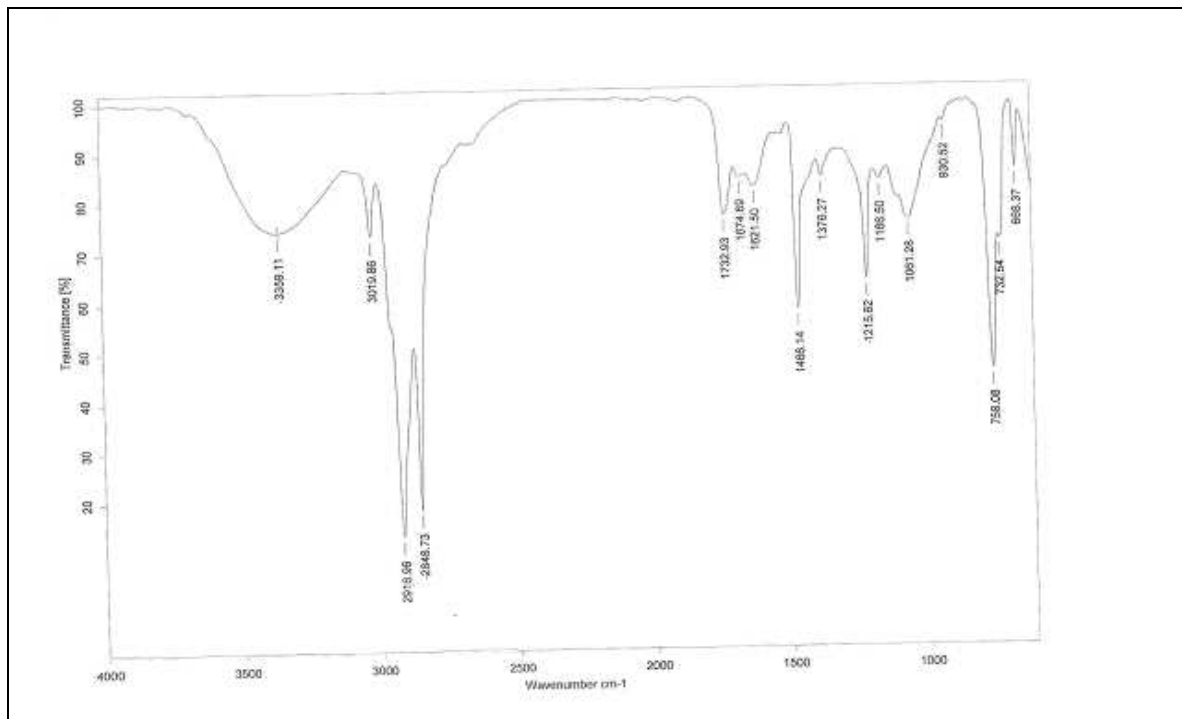
Es importante mencionar que se ha descrito que algunos de los derivados de este ácido (XIV-A) muestran cierta actividad biológica, ya que son capaces de inhibir la germinación y el crecimiento de algunas plantas.⁴⁰

El resto del residuo del extracto metanólico se acetiló, de ésta se aislaron los acetatos de β y α -glucosa (X, XI).

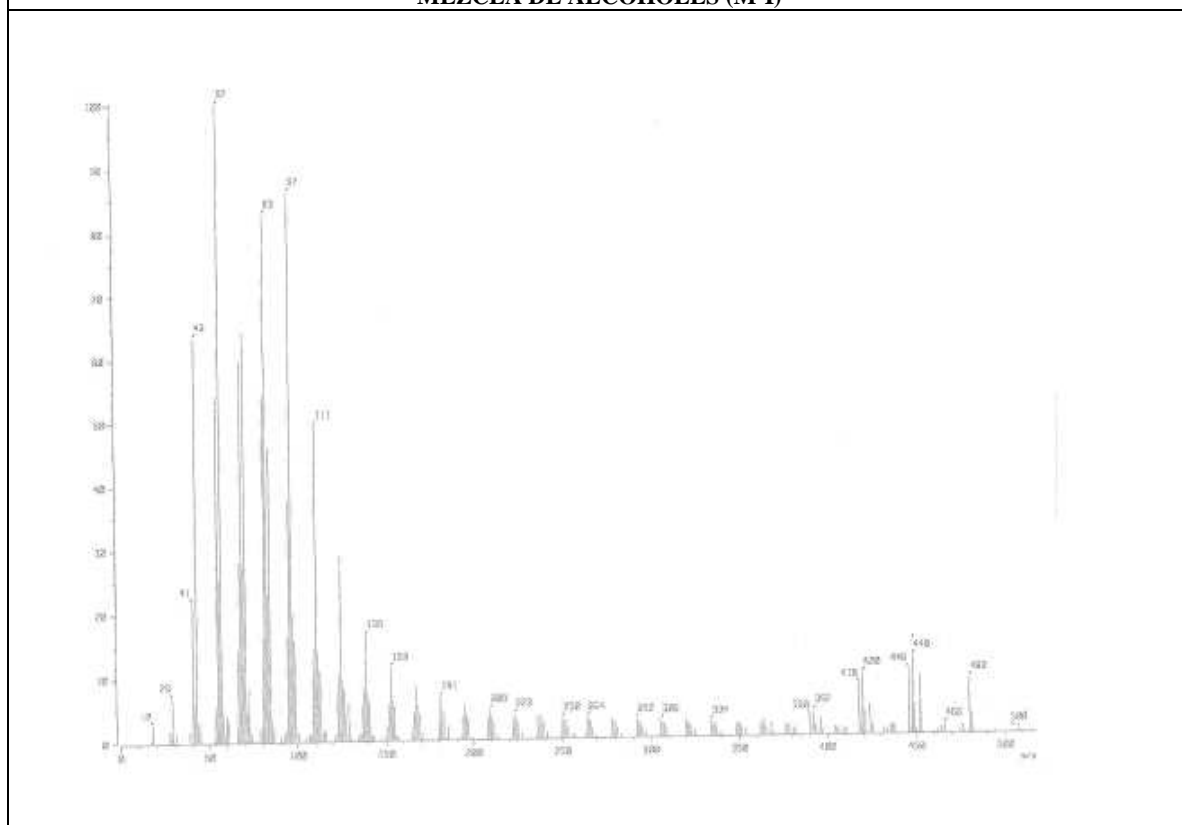
En los extractos de hexano y diclorometano se determinó por medio de análisis espectroscópicos (IR) y espectrométricos (EM) la presencia de una mezcla de alcoholes, observándose en el IR las siguientes señales; una banda ancha a $3019-3359\text{ cm}^{-1}$ para la tensión O-H, a 2916 cm^{-1} el estiramiento de C-H, a $1215-1166\text{ cm}^{-1}$ de C-O y a $1466-1376\text{ cm}^{-1}$ para los grupos metilos y metilenos, en el EM se observó que se trata de una mezcla con el ion m/z de 508 que es el ion molecular del compuesto de mayor masa.

En el extracto de DCM se obtuvo un sólido con p.f. 70°C , el cual en su espectro de infrarrojo mostró señales típicas para alcanos una banda de alargamiento a 2916 cm^{-1} de C-H y una de flexión a 1464 y 1377 cm^{-1} de los metilos y metilenos respectivamente. En el EM presenta un ion molecular que indica que existe una pérdida de dos protones obteniendo una m/z de 448 con conjuntos de picos separados en 14 unidades de masa de intensidad creciente lo cual es indicativo para hidrocarburos, asignándole la fórmula molecular $[(\text{C}_{32}\text{H}_{66})]$, 450 m/z que corresponde al dotriacontano.

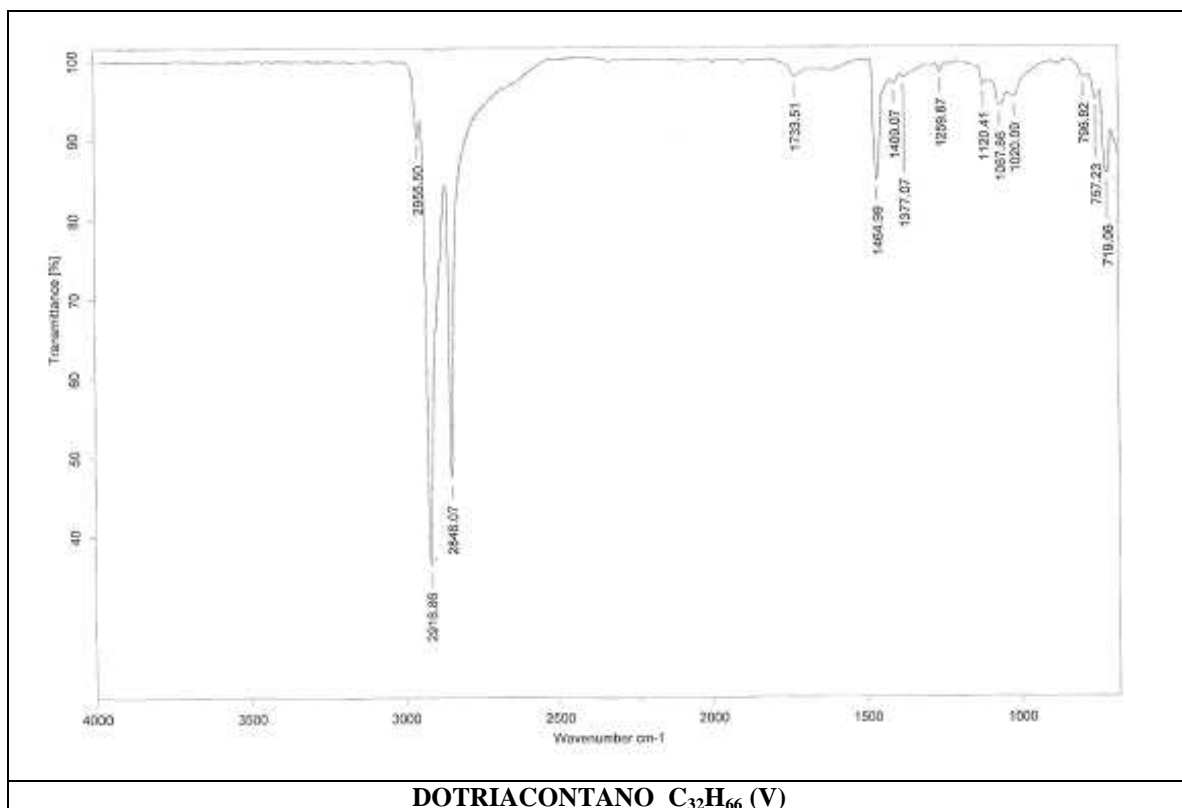
Del extracto de diclorometano se aisló un sólido con p.f $48^{\circ}-50^{\circ}\text{C}$, En su espectro de infrarrojo IR se observa debido a la vibración de tensión O-H a 3448 cm^{-1} , a 2955 cm^{-1} el estiramiento C-H y a 1215 cm^{-1} correspondiente al estiramiento de C-O, en el EM se observó un ion molecular de 435 m/z y una pérdida del grupo $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}$ (59 unidades de masa) que explica el pico 379 m/z , de acuerdo con los datos obtenidos se pudo asignar la fórmula molecular $(\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O})$, y la estructura del triacontanol.



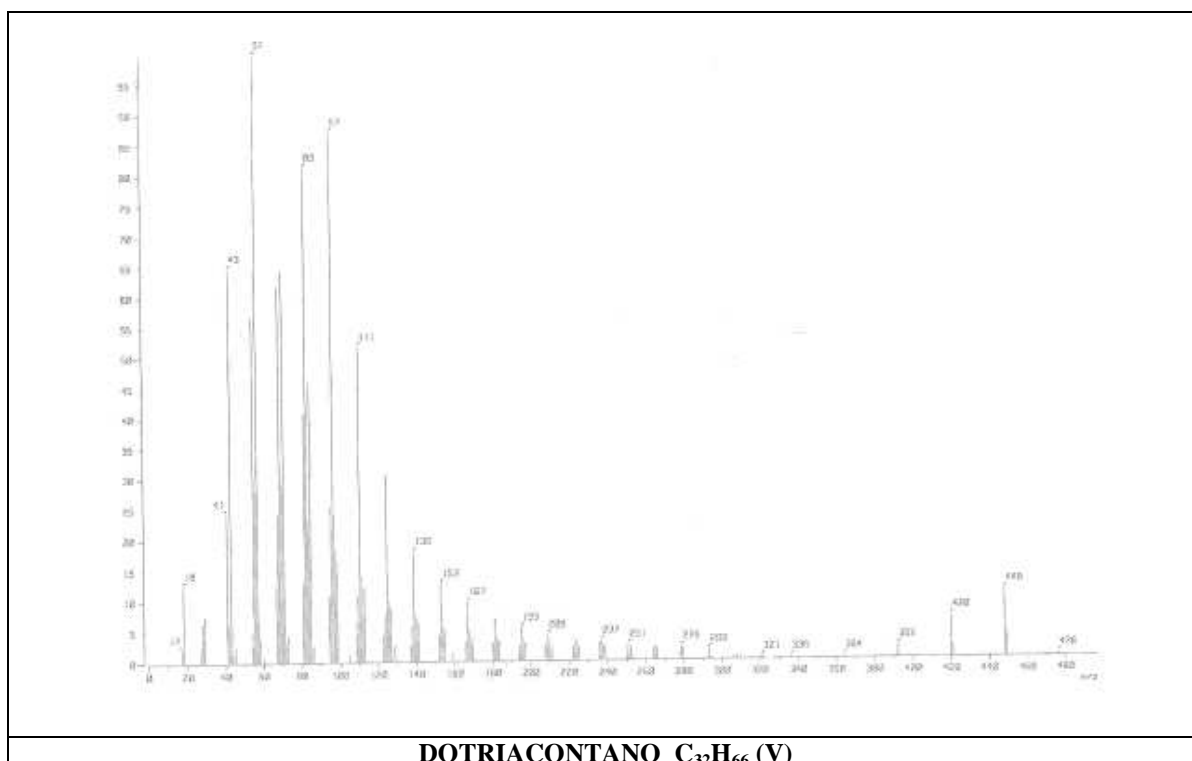
MEZCLA DE ALCOHOLES (M-I)



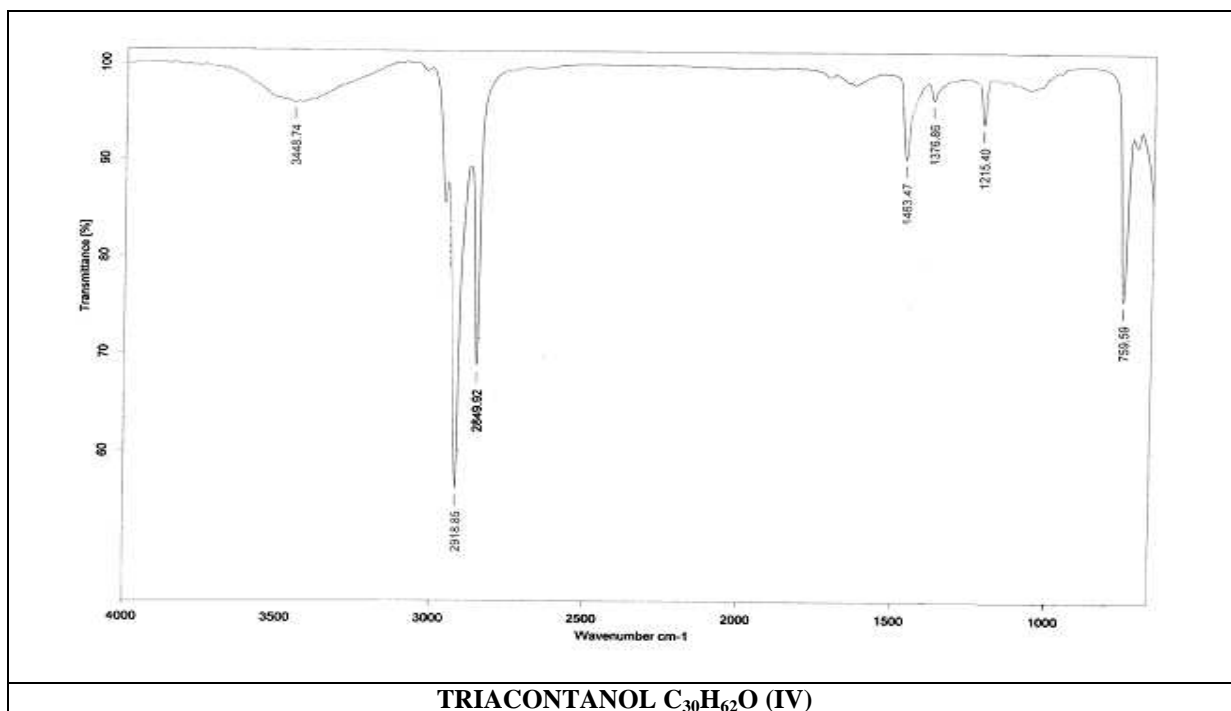
MEZCLA DE ALCOHOLES (M-I)



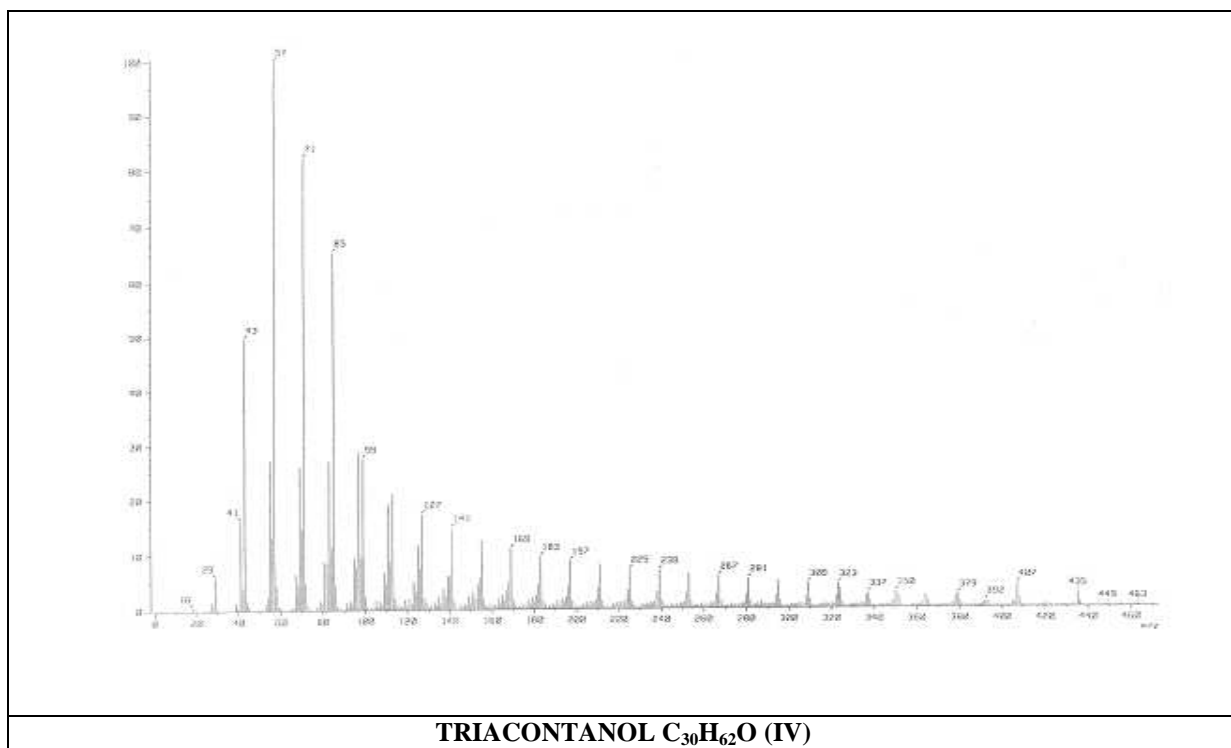
DOTRIACONTANO $\text{C}_{32}\text{H}_{66}$ (V)



DOTRIACONTANO $\text{C}_{32}\text{H}_{66}$ (V)



TRIACONTANOL C₃₀H₆₂O (IV)



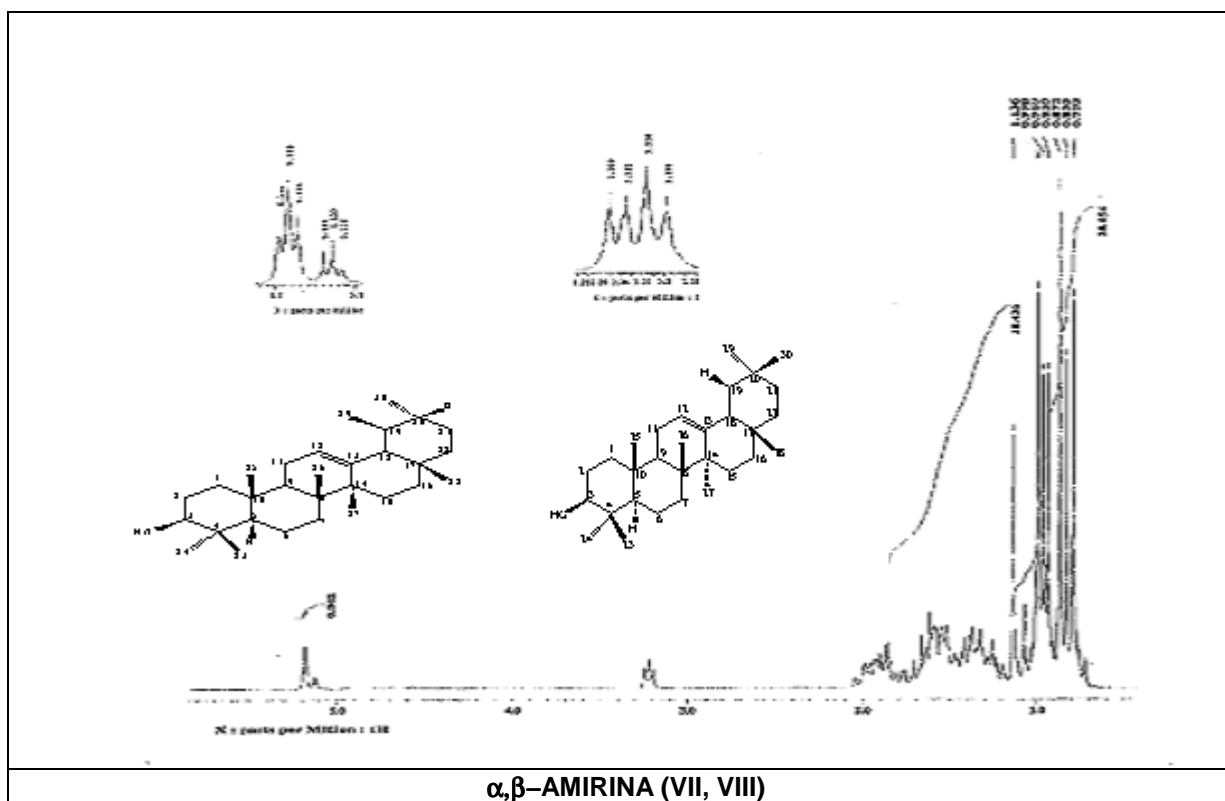
TRIACONTANOL C₃₀H₆₂O (IV)

4.2 α -AMIRINA (VII)

De los extractos de hexano y de diclorometano se obtuvo un compuesto sólido de punto de fusión 183-184°C, que en el espectro de infrarrojo (IR) presenta una señal a 3397 cm^{-1} para el grupo OH, a 3058, 1638 y 822 (doble enlace trisustituido).

En el espectro de masa se observa una ion molecular m/z de 426 [$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$]. En la espectroscopia de protón se observa a 3.22 ppm una señal doble para el H3 y a 5.12 ppm una señal múltiple para el H12.

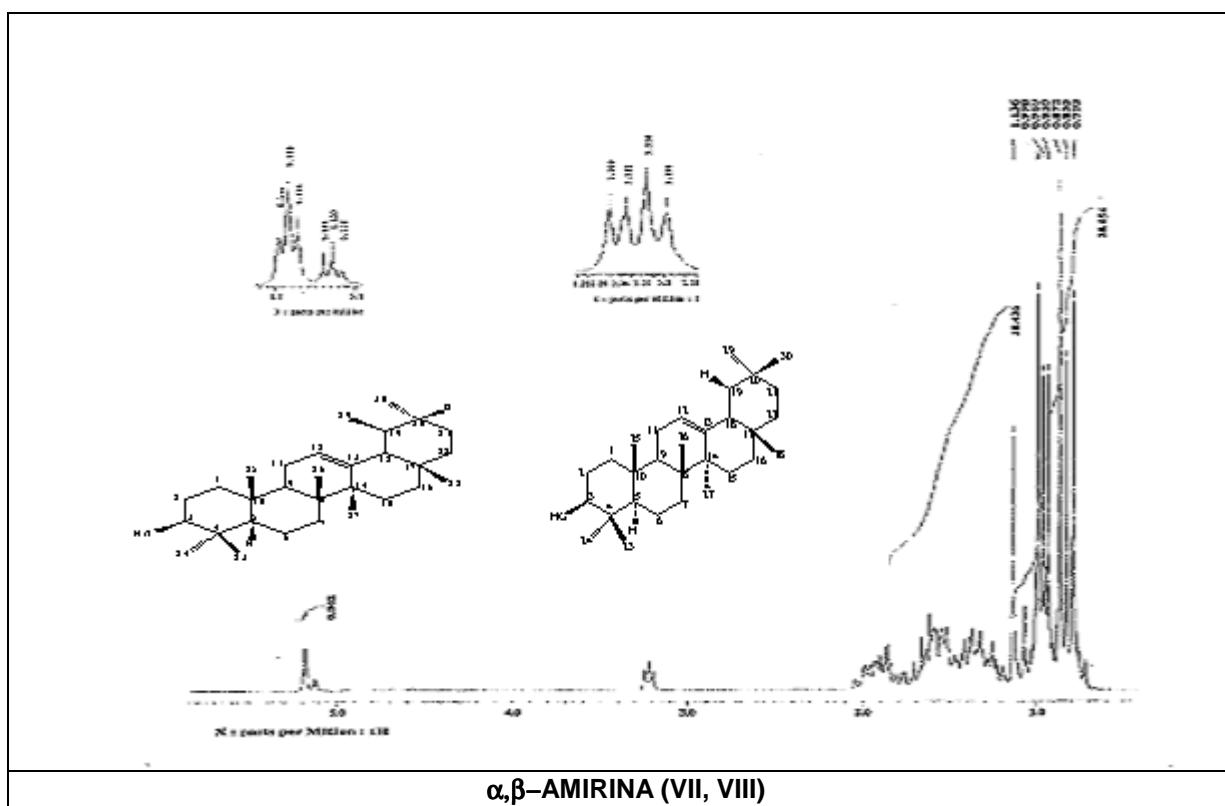
Se identificó como la α -amirina VII. La estructura del compuesto se confirmó al ser comparado con una muestra auténtica mediante CCF y sus datos espectroscópicos de la literatura.⁴³



4.3 β -AMIRINA (VIII)

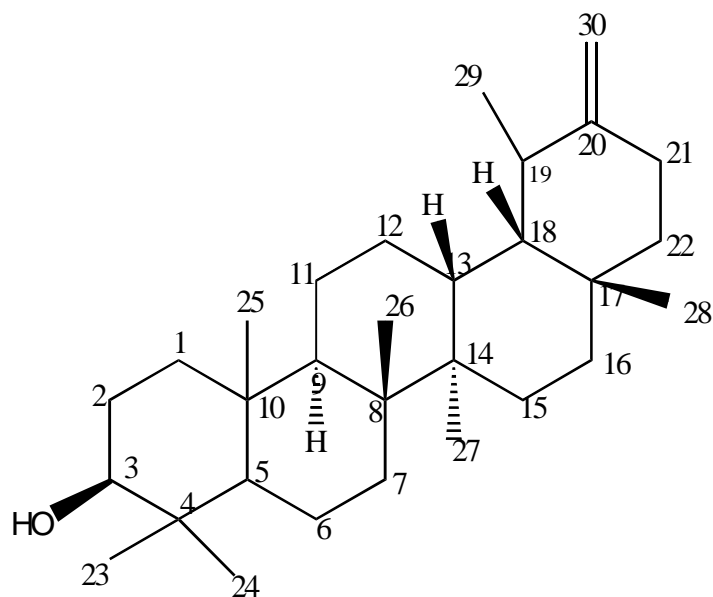
De los extractos de hexano y diclorometano se obtuvo un sólido de punto por cromatografía en columna de fusión 197-198°C. En su espectro de infrarrojo (IR) se observó una señal a 3397 cm^{-1} para el grupo OH, a 3050, 1636 y 820 (doble enlace trisustituido).

En el espectro de masas se observa un ion m/z de 426 [$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$]. En el espectro de ^1H RMN se observa a 3.18 ppm una señal doble para el H3 y a 5.10 ppm una señal múltiple para el H12.⁴⁴ Identificándose como la β -amirina (VIII), se confirmó comparandose con una muestra autentica.



4.4 TARAXASTEROL (IX)

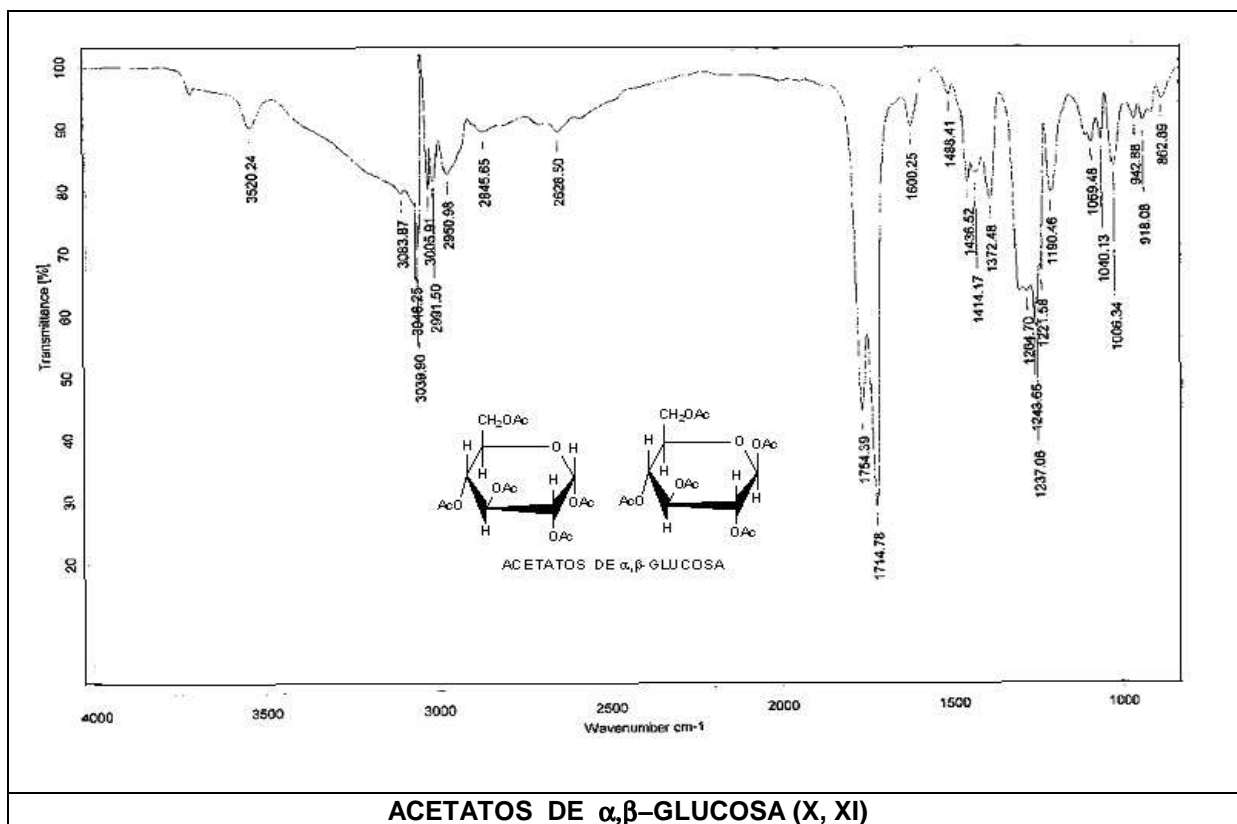
Compuesto obtenido por cromatografía en columna del extracto de diclorometano y por cromatografía en capa fina preparativa (CCFp) del extracto de metanol, un sólido de punto de fusión 225-227°C. En el espectro de infrarrojo (IR) se observa una señal a 3236cm^{-1} para el grupo OH, a 1637cm^{-1} dobles enlaces⁴³. En la espectroscopia de Resonancia Magnética de Protón ($^1\text{HRMN}$) se observa a 3.20 ppm una señal doble para el H3 y a 4.62ppm una señal múltiple para los H30, H30'. lo que permitió identificarlo como taraxasterol (IX). Esto se comprobó al compararse con una muestra auténtica por cromatografía en capa fina y con los datos obtenidos de la literatura.⁴⁵

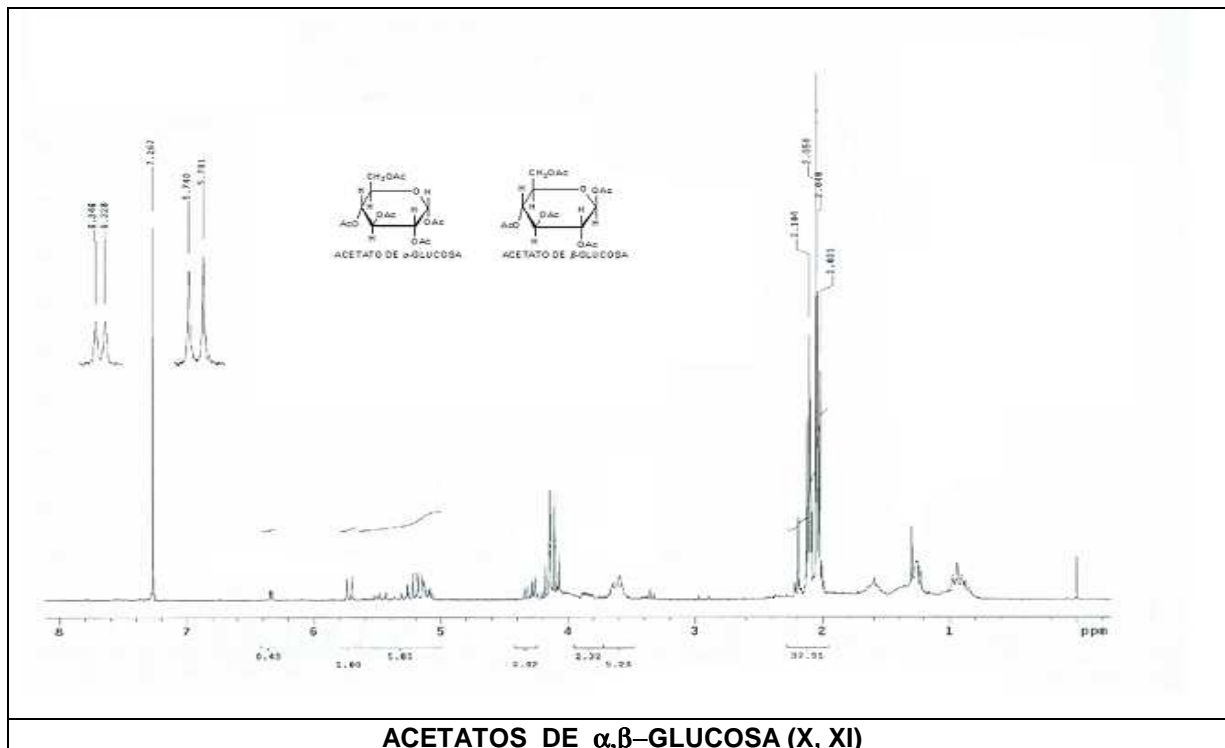


TARAXASTEROL (IX)

4.5 ACETATOS DE α y β - GLUCOSA (X, XI)

Del extracto metanólico del fruto de la *Cucurbita ficifolia* (Chilacayote) que fue acetilado después de purificarlo, se obtuvo como los pentacetatos de α y β -glucosa (X, XI). Observándose en su espectro de infrarrojo (IR) señales para los grupos carbonilos de los acetatos a $1754\text{-}1714\text{ cm}^{-1}$. El espectro de resonancia mostró las siguientes señales en 5.72 ppm una señal doble para el protón beta H_β , a 6.33ppm señal doble para el protón alfa H_α , se comprobó al compararse por cromatografía en capa fina con muestras auténticas de los acetatos.





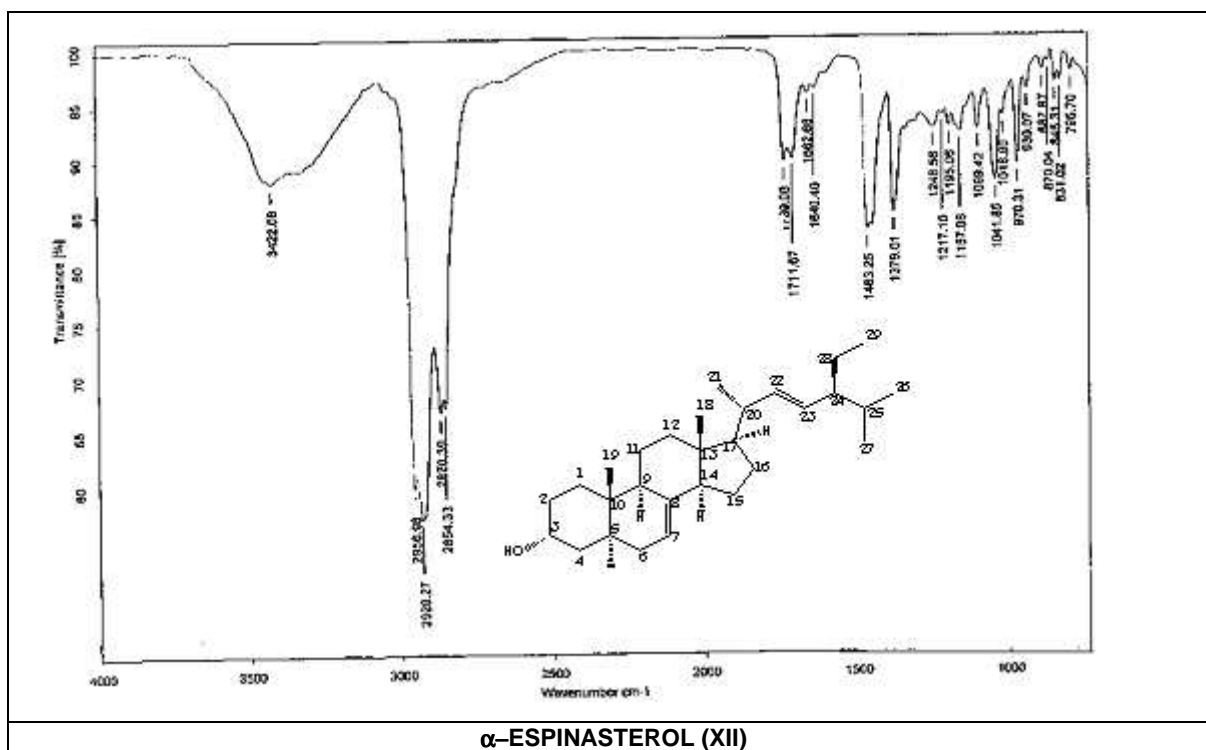
4.6 α -ESPINASTEROL (XII)

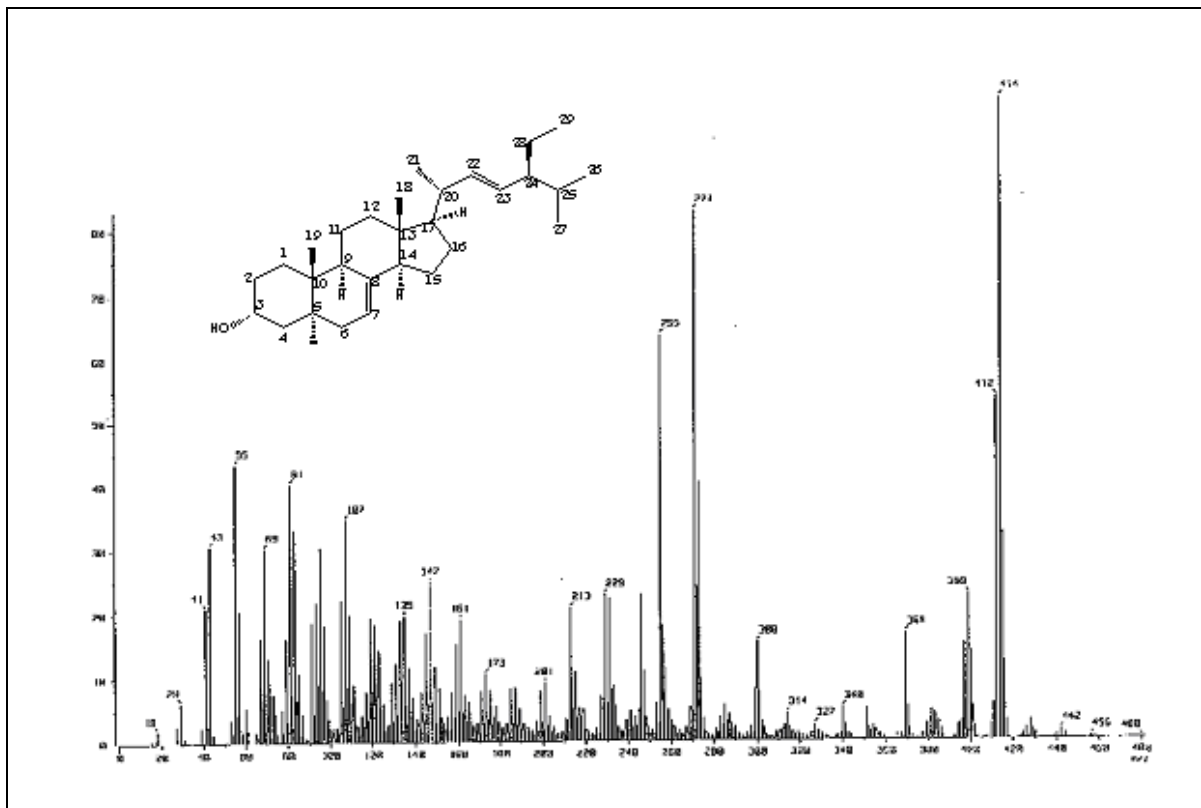
Un compuesto sólido de punto de fusión 123-125°C, fue obtenido por sucesivas cromatografías en capa fina preparativa del extracto de metanol.

El espectro de infrarrojo mostró una señal a 3402 cm^{-1} señal indicativa para grupos hidroxilos, a 2845 cm^{-1} señal para metilos y metilenos, en el espectro de Resonancia Magnética Nuclear protónica ($^1\text{HRMN}$) se observa a 3.59 ppm una señal triple para H3, a 5.16 ppm un multiplete (m) para H7 y a 5.16, 5.02 ppm una señal (dd) para H22, 23 respectivamente.

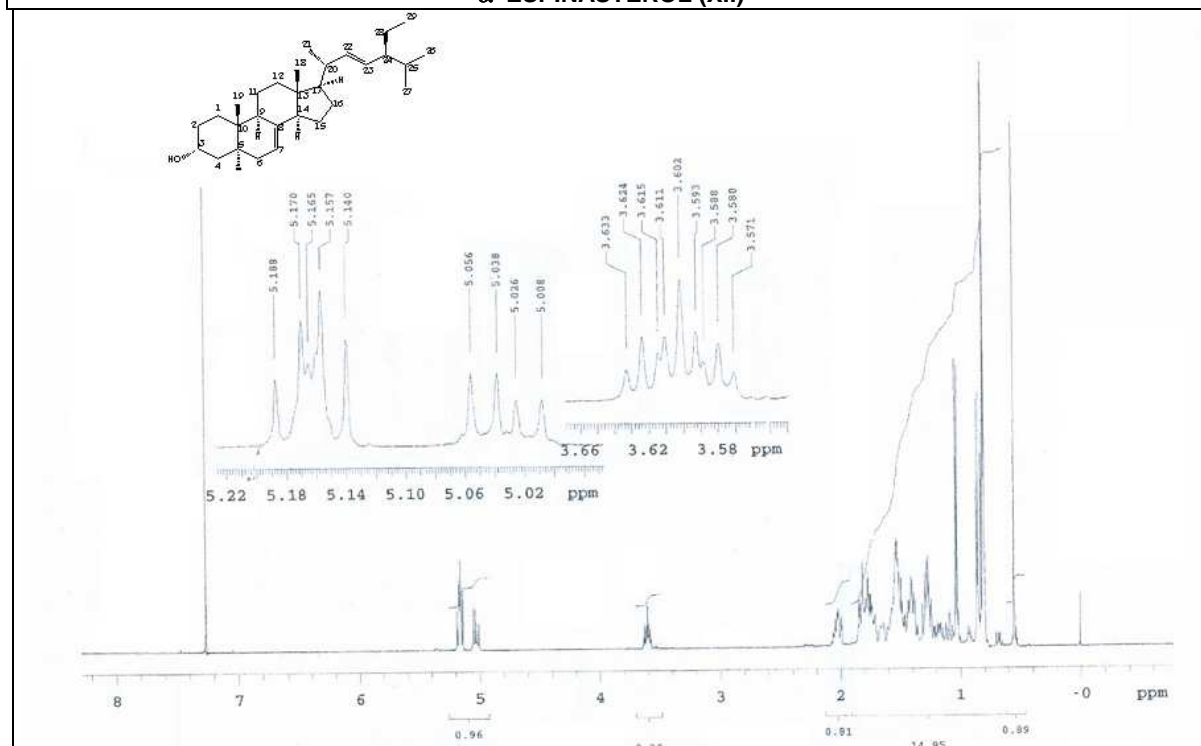
El sólido fue identificado como el α -espinasterol (XII).⁴⁶

Lo que se confirmó al ser comparando con una muestra autentica.





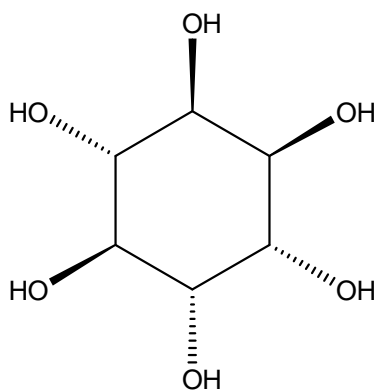
α -ESPINASTEROL (XII)



α -ESPINASTEROL (XII)

4.7 INOSITOL (XIII)

Por sucesivas cromatografías se obtuvo un compuesto del extracto de metanol, un sólido de punto de fusión 245-250°C inositol (XIII), en el espectro de infrarrojo (IR) mostró una señal para el grupo OH a una longitud de onda de 3110 cm^{-1} . En el espectro de masas se observó un ion molecular de 180m/z asignándole la fórmula molecular de $(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)$. El espectro de RMN de protón nos muestra señales a 3.99ppm, la cual no está muy bien definida observándose como múltiple. Para la identificación del compuesto se comparó con una muestra auténtica por cromatografía en capa fina.



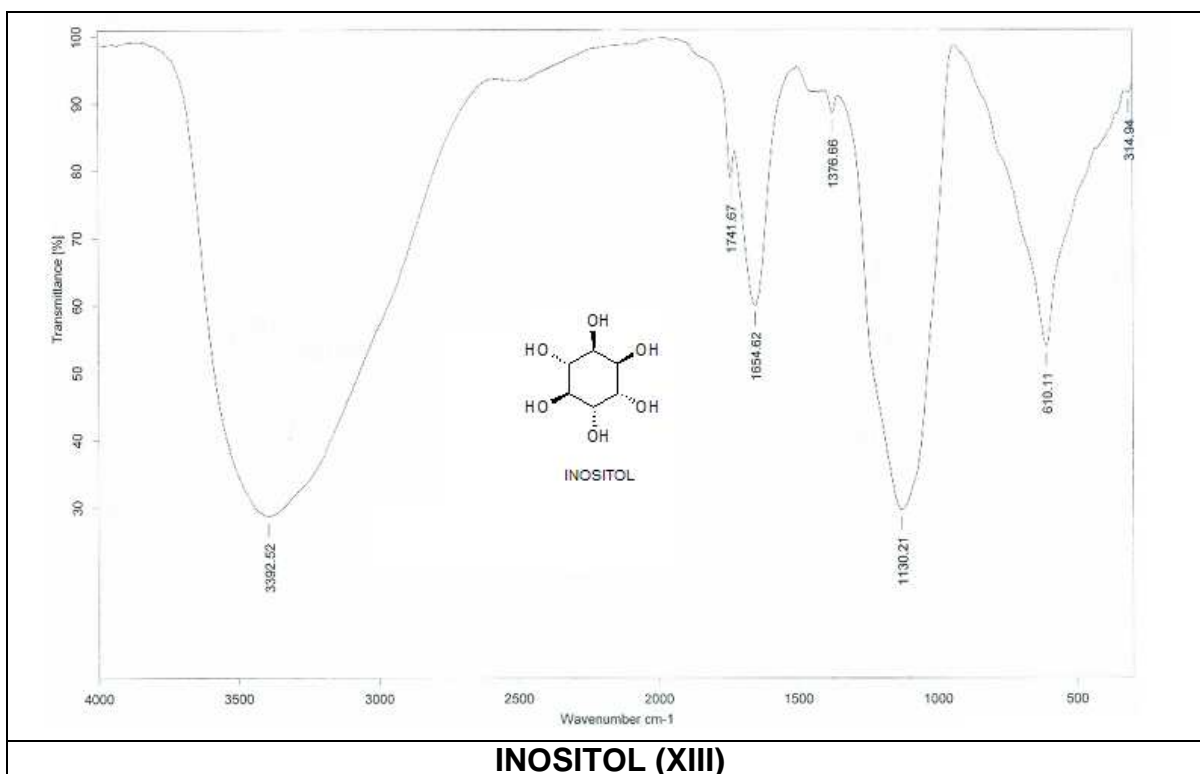
D-QUIRO-INOSITOL (XIII)

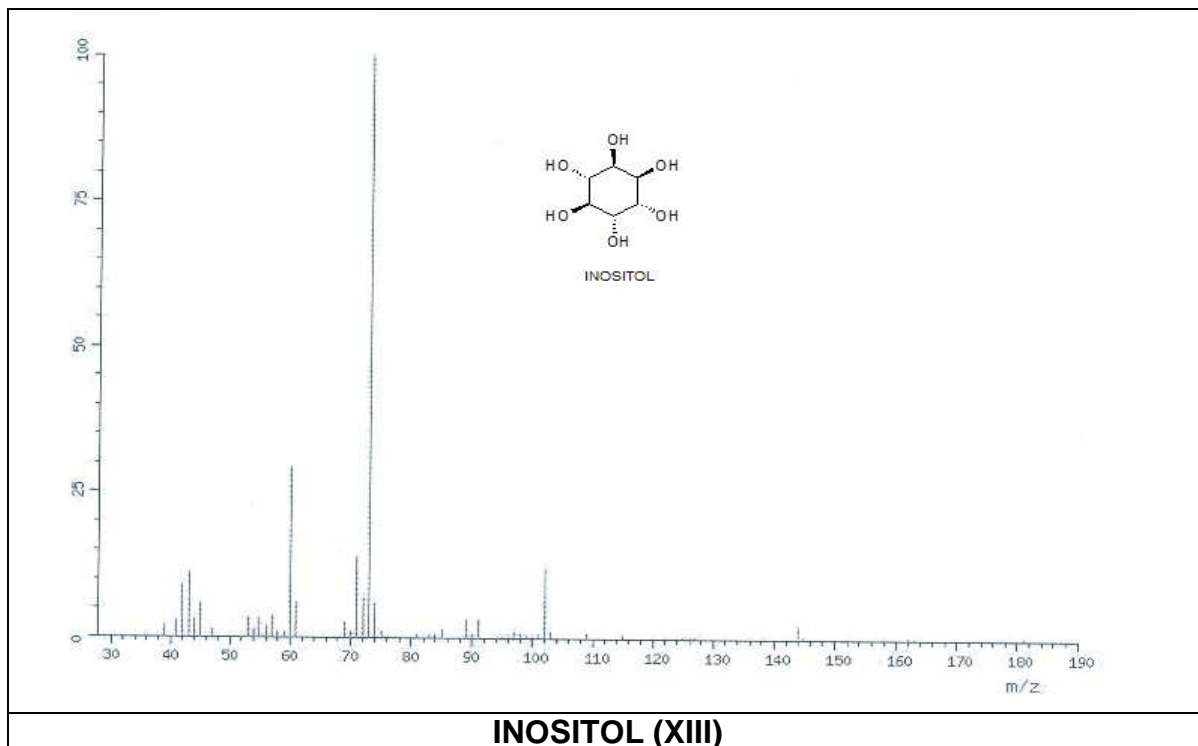
Se obtuvo el D-qui-ro-Inositol (XIII) del extracto metanólico del fruto del “Chilacayote” de la (*C.ficifolia*) el cual se identificó por comparación de su punto de fusión con una muestra auténtica.

En últimas décadas trabajos previos han evaluado su actividad en ratas diabéticas también se ha indicado que los inositoles particularmente el D-qui-ro-inositol (XIII) es importante en la mecánica de acción de la insulina.⁴⁷

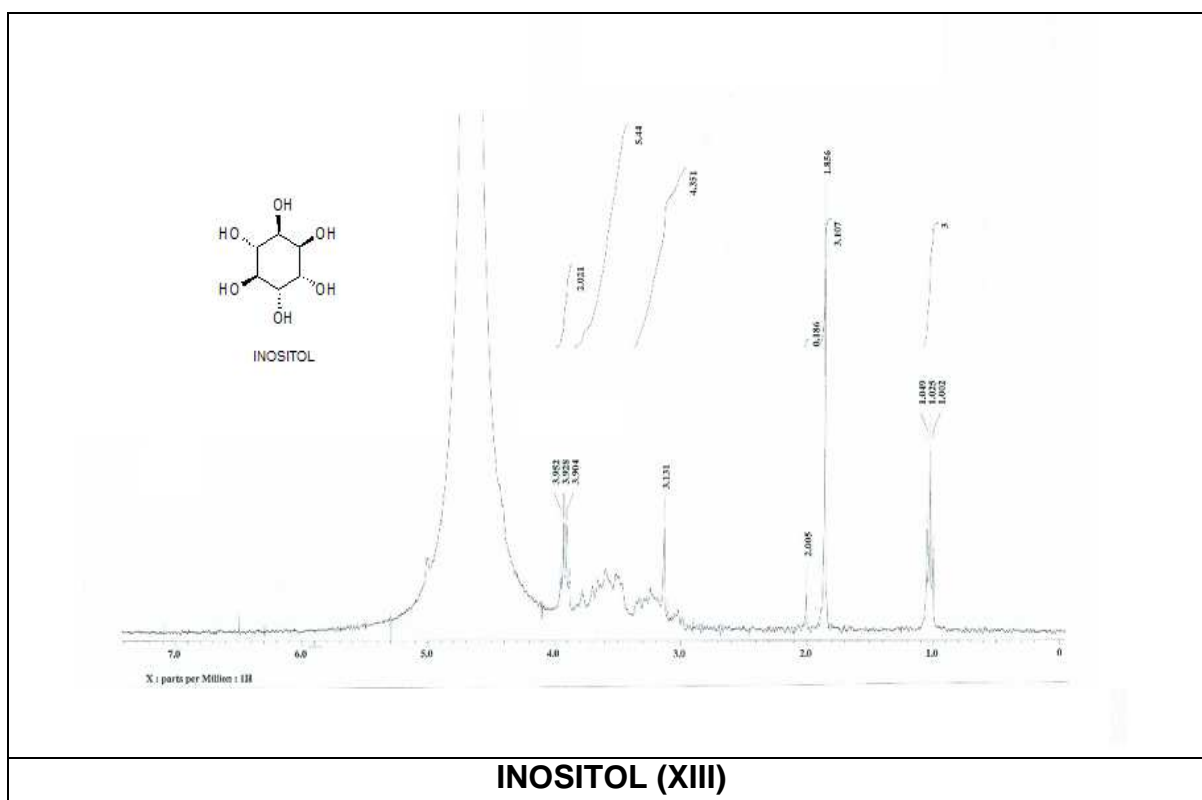
La existencia de este inositol (XIII) en los extractos de la *C.ficifolia*, es de gran importancia como ya se menciona.

Se ha comprobado que ayuda a la disminución en la concentración de glucosa en la sangre, siendo de esta manera una probable ayuda para las personas que sufren de diabetes tipo II.





INOSITOL (XIII)

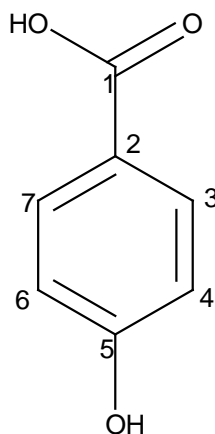


INOSITOL (XIII)

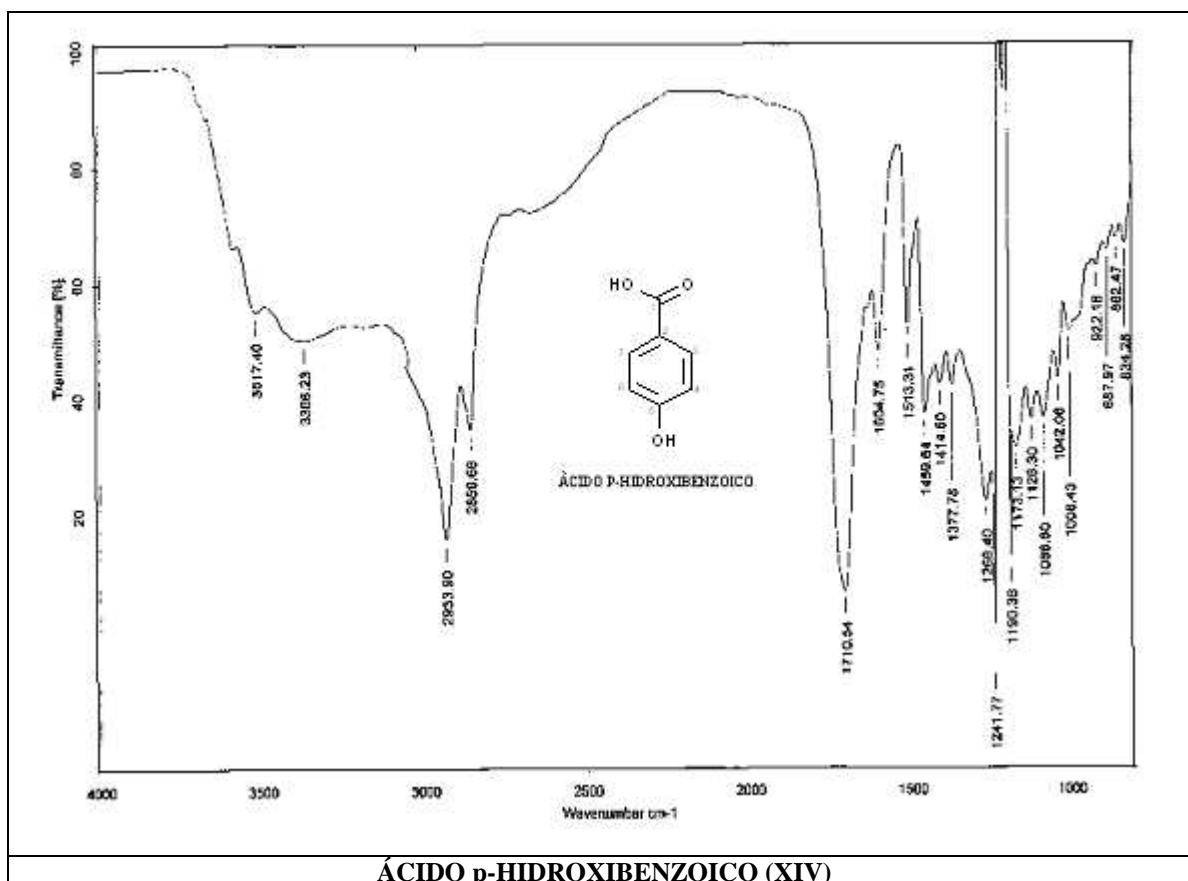
4.8 ÁCIDO p-HIDROXIBENZOICO (XIV)

Del extracto metanólico también se separó por sucesivas cromatografías en columna un sólido con p.f. 70-84°C. El espectro de infrarrojo (IR) mostró a 3210 cm^{-1} una señal ancha para la tensión de O-H, a 1710, 1080 cm^{-1} señal para carbonilos de ácidos, observándose en el espectro de resonancia una señal a 5.0, 6.94, 7.96, 6.94 ppm para los protones del aromático H4, H6 y H3, H7, respectivamente, en 11.08 ppm para protón ácido, de las señales observadas se concluyó que se trata del ácido p-hidroxibenzoico (XIV).

Al acetato de este producto se le realizaron pruebas biológicas obteniendo resultados positivos en la reducción de los niveles de glucosa en sangre.



ACIDO p-HIDROXIBENZOICO (XIV)

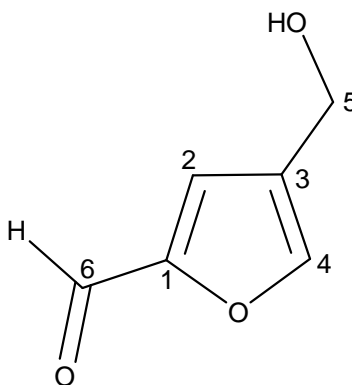


ÁCIDO p-HIDROXIBENZOICO (XIV)

4.9 HIDROXI-METIL-FURFURAL (XV)

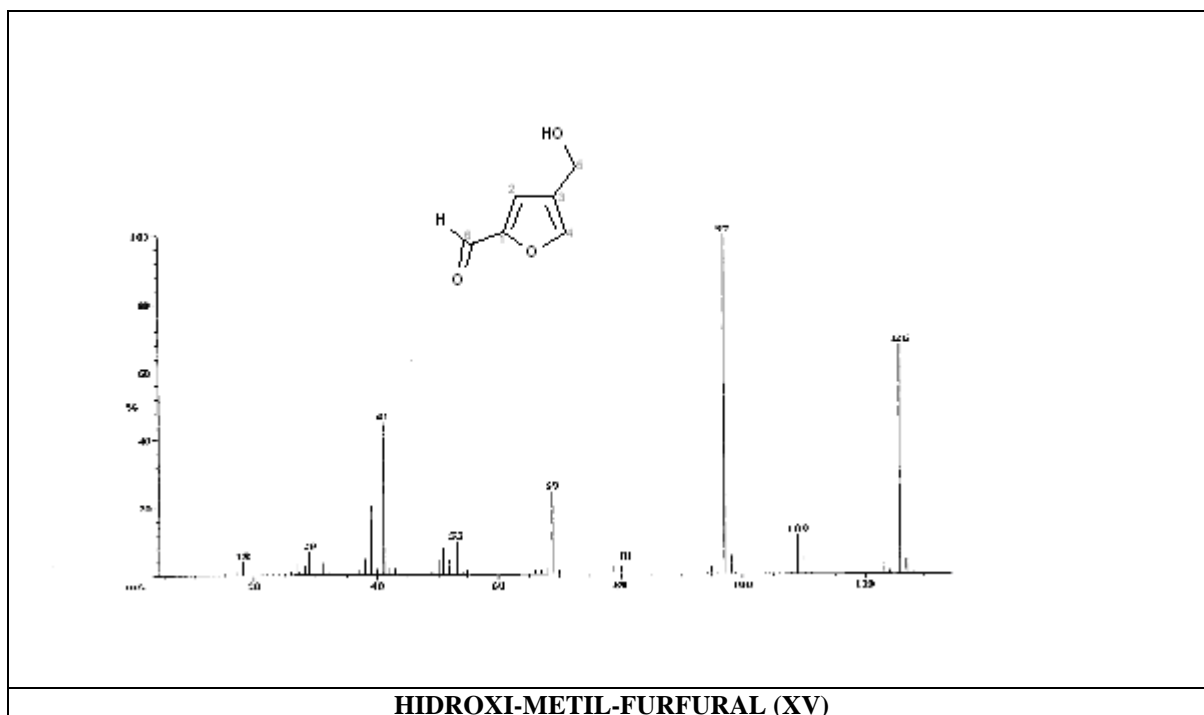
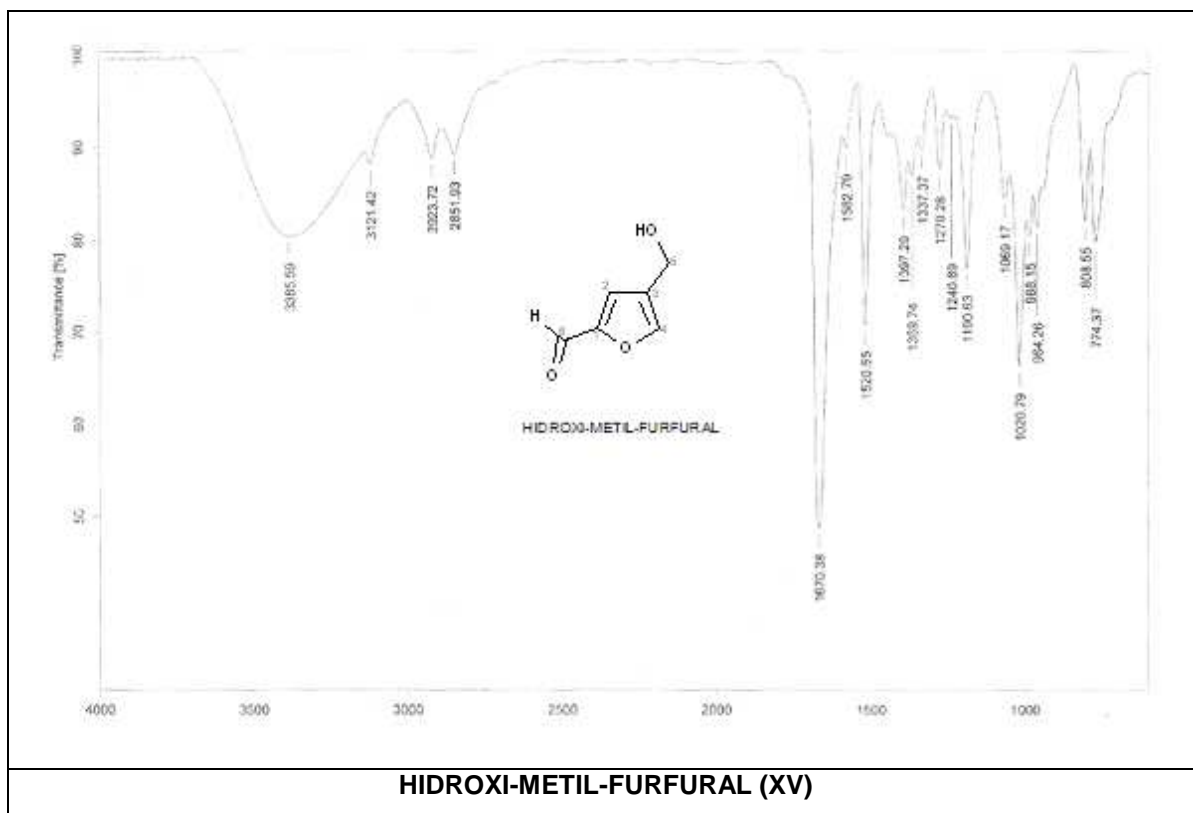
De la cromatografía en columna del extracto metanólico, se obtuvo un compuesto semisólido, que en el espectro de infrarrojo (IR) se observó una señal a 3385 cm^{-1} que corresponde al grupo OH, a 1670 cm^{-1} señal característica para aldehídos, de la espectroscopia de protón se observó una señal a 6.57ppm para H2, a 7.37ppm del H4 y a 2.82 para H5.

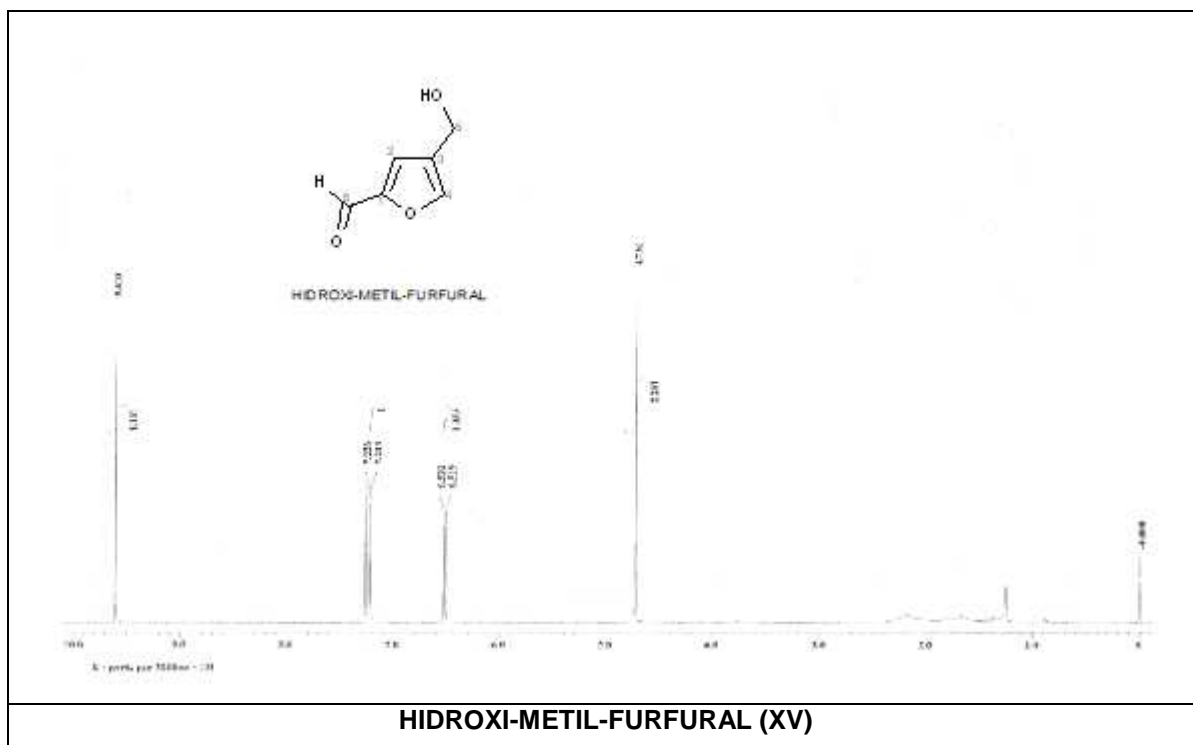
Su identificación se corroboró por cromatografía de gases acoplado a masas estableciendo su estructura Hidroxi-metil-furfural (XV),



HIROXI-METIL-FURFURAL (XV)

Es interesante mencionar que el ácido correspondiente al producto de la oxidación del aldehído (hidroxi-metil-furfural (XV)) tiene una actividad citotóxica selectiva como antitumoral los cuales se describen en los trabajos recientemente desarrollados por Casanova y Tamara⁴⁸

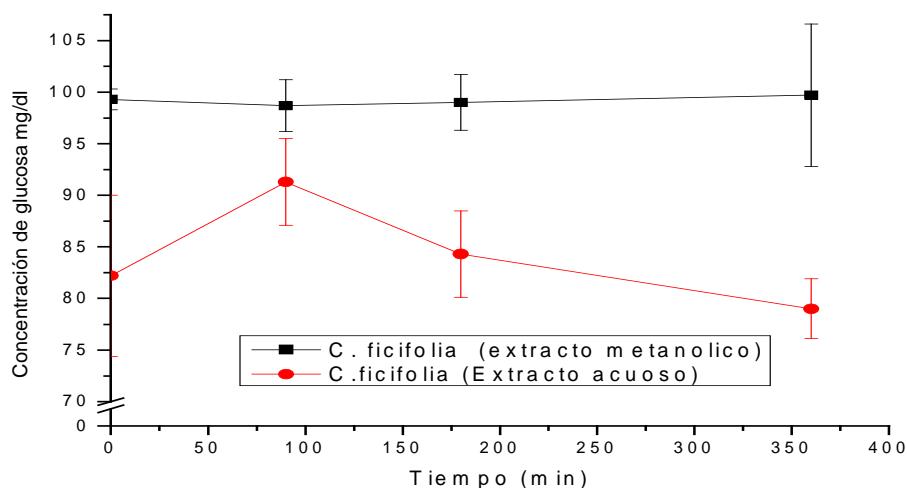




4.10 EVALUACION DE LOS NIVELES DE GLUCOSA.

4.10.1. Efecto de los extractos metanólico y acuoso de *Cucurbita ficifolia* en ratas normoglucémicas.

En la grafica 1 se muestra el curso temporal del efecto sobre los niveles de glucosa sanguínea en ratas normoglucémicas tratadas con los extractos metanólico y acuoso administrados por vía intraperitoneal (iP). Se observa que el extracto acuoso aumenta los niveles de glucosa en los primeros 90min después de su administración, y a partir de los 180min van disminuyendo hasta alcanzar prácticamente su valor basal. El extracto metanólico no produjo variaciones en los niveles de glucosa, lo que se corrobora con los valores que se muestran en la tabla 2.



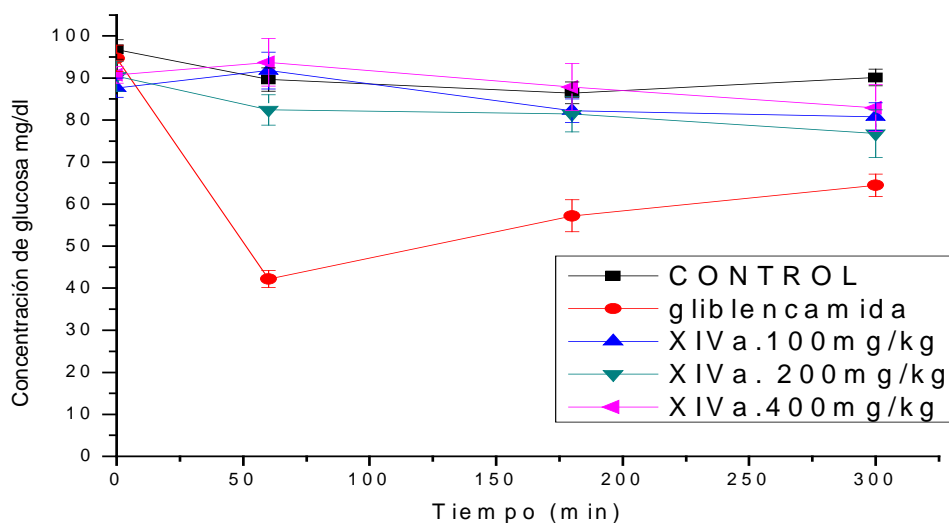
GRAFICA 1. Curso temporal de los niveles de glucosa en ratas normoglucémicas tratadas con los extractos administrados vía IP a la dosis de 100mg/kg. Se presentan los promedios de $n=7 \pm$ ESM. * $p<0.05$ con respecto al valor basal de cada extracto.

Grupo	Basal (mg/dl)	1.5 hr	3 hr	6 hr
Extracto metanólico de <i>C. ficifolia</i> 100 mg/kg	99.3 \pm 1.0	98.7 \pm 2.5	99.0 \pm 2.7	99.7 \pm 6.9
Extracto acuoso de <i>C. ficifolia</i> 100mg/kg	82.2 \pm 7.8	91.3 \pm 4.2	84.3 \pm 4.2	79.0 \pm 2.9

Tabla 2. Efecto de los extractos de *Cucurbita ficifolia*. Se presenta el promedio \pm la error estándar de la media de n=9.

4.10.2. Efecto de los niveles de glucosa después de la administración de la glibenclamida y diferentes dosis de compuesto aislado de *C.ficifolia*. en ratas normoglucémicas.

La grafica 2 se muestra que los niveles de glucosa del grupo control (vehículo) no se reduce respecto a su basal, y por ende estas son prácticamente constantes. También se ve que el grupo tratado con glibenclamida los niveles de glucosa desciende a los 60min postadministración, sin embargo los niveles de ésta tienden a regresar a su valor basal conforme transcurre el tiempo. El acetato del ácido p-hidroxibenzoico aislado de *C.ficifolia* probado a diferentes dosis, no produjo una respuesta dependiente de la dosis; no obstante se observa una tendencia de reducir moderadamente los niveles de glucosa a los 300min respecto a su nivel basal, esto se corrobora con los datos que se presentan en la tabla 4.



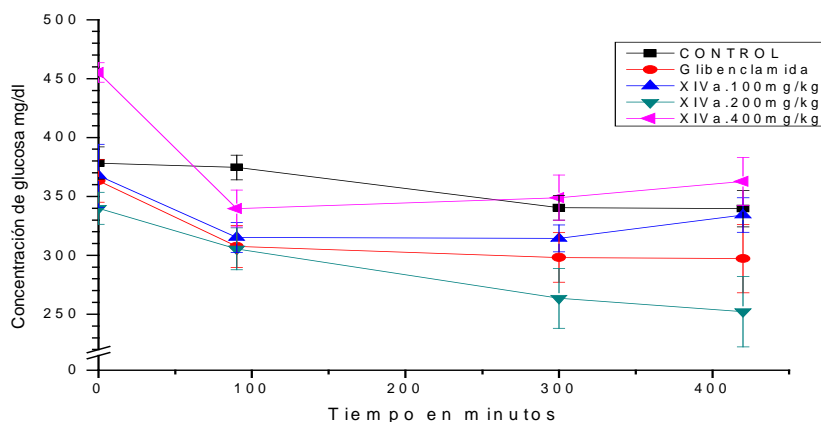
GRAFICA 2. Curso temporal de las concentraciones de glucosa en ratas normoglucémicas, el control, la glibenclámda, y acetato del ácido p-hidroxibenzoico XIVa de *C.ficifolia* a diferentes dosis. Cada punto representa el promedio de $n=7 \pm$ ESM. * $p<0.05$. con respecto a su valor basal.

Grupo	Basal (mg/dl)	1 hr	3 hr	5 hr
Control	96.77 \pm 2.3	89.67 \pm 2.8	86.44 \pm 2.6	90.11 \pm 2.0
Glibenclámda 10 mg/kg	94.7 \pm 3.1	42.2 \pm 2.0*	57.2 \pm 3.8*	64.5 \pm 2.7*
XIVa 100 mg/kg	87.67 \pm 2.3	91.78 \pm 4.4	82.22 \pm 2.8	80.78 \pm 3.3
XIVa 200 mg/kg	90.44 \pm 3.6	82.44 \pm 3.6	81.44 \pm 4.2	76.78 \pm 5.7
XIVa 400 mg/kg	90.75 \pm 2.0	93.75 \pm 5.7	87.87 \pm 5.6	82.87 \pm 5.6

TABLA 4. Efecto del grupo control, glibenclámda (10mg/kg), y el acetato del ácido p-hidroxibenzoico (XIVa) a diferentes dosis (100, 200 y 400 mg/kg) de *Cucurbita ficifolia*. Se presenta el promedio \pm de $n=7 \pm$ ESM * $p<0.05$, respecto a la basal de cada grupo.

4.10.3. Efecto de los niveles de glucosa después de la administración de la glibenclamida y diferentes dosis del compuesto de *C.ficifolia* en ratas diabéticas.

La grafica 3 permite observar el curso temporal de los niveles de la glucosa en ratas diabéticas después de la administración por vía intraperitoneal de la glibenclamida, y diferentes dosis del acetato del ácido p-hidroxibenzoico AcC-II. Se observa un descenso significativo de los niveles de glucosa sanguínea después de la administración de la glibenclamida. En la respuesta del acetato del ácido p-hidroxibenzoico (XIVa) a la dosis de 100mg/kg hay un descenso moderado de los niveles de glucosa en los primeros 90min pero conforme transcurre el tiempo el nivel de glucosa tiende a ir aumentando sin llegar al valor de su basal. A la dosis de 200mg/kg se observa con respecto a su valor basal, una disminución notable de la glucosa desde los primeros 90min hasta los 420min. A la dosis de 400mg/kg también se reduce los niveles de glucosa desde los 90min, sin embargo conforme transcurre el tiempo tiende a incrementarse los niveles de glucosa, sin llegar a su valor basal. Estas respuestas se corroboran con los valores que se muestran en la tabla 5.



GRAFICA 3. Curso temporal de la concentración de glucosa concentrándose en una sola graficas para su observación, el control, la glibenclamida, el acetato del ácido p-hidroxibenzoico (XIVa) a diferentes dosis (100, 200 y 400 mg/kg). Cada punto representa el promedio de $n=7 \pm$ la ESM. * $p<0.05$ respecto a la basal de cada grupo.

Grupo	Basal (mg/kg)	1:30 hr.	5 hr.	7 hr.
Control	378.3 \pm 13.7	374.6 \pm 10.5	340.3 \pm 10.3	339.6 \pm 15.5
Glibenclamida 10 mg/kg	363.2 \pm 18.0	307.5 \pm 17.8*	298.2 \pm 21.1*	297.1 \pm 28.9*
XIVa 100 mg/kg	367.6 \pm 26.8	315.2 \pm 12.8	314.3 \pm 11.5	334.2 \pm 14.6
200 mg/kg XIVa	340.0 \pm 13.6	305.5 \pm 17.9	263.5 \pm 25.4	252.2 \pm 30.0
400 mg/kg XIVa	455.2 \pm 8.4	339.7 \pm 15.6*	349.0 \pm 19.2*	362.7 \pm 20.4*

TABLA 5. Efecto del grupo control, el fármaco de referencia glibenclamida (10mg/kg), el acetato del ácido p-hidroxibenzoico (XIVa) a diferentes dosis (100, 200 y 400 mg/kg) de *Cucurbita ficifolia*. Se presenta el promedio \pm de $n=7 \pm$ la ESM * $p<0.05$ respecto al valor de la basal de cada compuesto.

Los extractos del fruto del “Chilacayote” *Cucurbita ficifolia* contiene metabolitos de naturaleza triterpénica, esteroides, hidrocarburos, alcoholes, ácidos grasos etc.

Farmacológicamente se ha comprobado que el β -sitosterol, α -amirina, β -amirina, taraxasterol, triacontanol y dotriacontano⁴⁹, los cuales se aislaron de los extractos de hexano y diclorometano de la *C.ficifolia*, no poseen actividad hipoglucemiante.

El extracto acuoso provoca un aumento en los niveles de glucosa al primer tiempo experimental, y posteriormente fue reduciendo dichos niveles, no obstante conforme transcurre el tiempo se observa que se van reduciendo los niveles de glucosa.

Estos resultados con el extracto acuoso en cual se muestra una moderada actividad hipoglucemiante, corroboran el uso medicinal en el tratamiento de la diabetes como lo refiere la medicina tradicional.

Sin embargo cuando se experimento con el extracto metanólico en ratas normoglucémicas, se observó que éste no produjo cambios en los niveles de glucosa. No obstante se procedió a fraccionar el extracto metanólico en el que se separó el ácido p-hidroxibenzoico (XIV), el cual se acetiló (XIVa) y éste último fue seleccionado para evaluar su actividad hipoglucemiante observandose que tanto en ratas normoglucémicas como en diabéticas se observaba ligeras disminucion de la glucosa en sangre.

En las ratas normoglucémicas el acetato del ácido p-hidroxibénzoico (XIVa) no produjo una respuesta hipoglucemiante de manera dependiente de su concentración. Sin embargo en ratas diabéticas modifico de manera notable los niveles de glucosa lo que sugiere que una dosis mayor o bien una dosis diaria podría ser confirmativa de esta respuesta.

El extracto acuoso, el extracto total (jugo) y los compuestos acetato del ácido p-hidroxibénzoico y D-qui-ro-inositol aislados del “Chilacayote” *Cucurbita ficifolia*, presentaron actividad hipoglucemiante

-----V. CONCLUSIONES-----

Del fruto seco del chilacayote *C. ficifolia* se prepararon extractos de hexano, diclorometano y metanol, como se describe en este primer estudio químico de los frutos de esta planta de los que se aislaron: triterpenos, esteroides, hidrocarburos, alcoholes de cadena lineal, ácidos y no presentaron actividad hipoglucémica, los cuales fueron:

Mezcla de Ácidos y Alcoholes de cadena lineal (M-I, M-II, M-III)

Triacantanol. (IV)

Dotriacontano (V)

β -Sitosterol (VI)

α -Amirina (VII)

β -Amirina (VIII)

Taraxasterol (IX)

Acetato de α - β -Glucosa (X, XI)

α -Espinasterol (XII)

Ácido p-Hidroxibenzoico (XIV)

D-qui-ro-Inositol (XIII)

Hidroximetil-furfural (XV)

Dentro de las pruebas biológicas hechas se observó que el acetato del ácido p-hidroxibenzoico (XIVa) presenta actividad hipoglucemiante a una dosis de 400 mg/kg, pero el ácido como tal no presenta actividad hipoglucemiante.

Es importante señalar que son los primeros estudios químicos realizados al fruto de la *Cucurbita ficifolia* (Chilacayote).

-----BIBLIOGRAFIA-----

1. <http://www.cientec.or.cr/ciencias/articulos.html>
2. Hamburger M, Hostettamann K. 1991. Medicine *Phytochemistry*. 30, 3864.
3. *Especies plantarum*. 1753 (2): 1010; *Genera Plantarum* Ed. 1754 (5): 441; Annotation: nom. et typ. cons. see *Taxon*. 1995 (44): 611-612.
4. Roman R. et.al. 1992. *Archives of medicinal research*. 23, 105-109.

5. Hernández Bermejo J E, J León. 1994. Neglected crops: 1492 from a different perspective. <http://www.fao.org/docrep/t0646e/T0646E0a.htm>
6. Andrade-Cetto A. 1955. Fac. de Ciencias UNAM.
7. Argueta A. et.al. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana I. 1ªed. INI, México. 548p.
8. Tao Xia, Qin Wang. 2007. Journal of the science of food and Agriculture 87: 1753-1757.
9. <http://chloe.dgsca.unam.mx/cns/no42/CNS04210.pdf>
10. Akihisa T. et.al. 1987. Phytochemistry. 26(6): 1693-1700
11. Xia T, Wang Q. 2006. J Pharm Pharmacol. 58, 1527-1532
12. Raman A, Lau C. 1996. Phytomedicine. 2:349–62.
13. Saeed Arayne M, Najma S, Agha Zeeshan M, M. Hashim Z, Farhan Ahmed S. 2007. J.Pharm. Sci. 20, 261-268.
14. Instituto Mexicano del Seguro Social (Mex.). 1994. Tabla de los alimentos.
15. Garibay Bagnis C, San Martín Martínez E. 2006. Edición especial No. 11.
16. Goad L J, Goodwin T W. 1972. Phytochemistry. 2, 113.
17. http://www.iqb.es/d_mellitus/medicinas
18. Metabolismo Secundario
<fbio.uh.cu/webfv/articulos/metabolismo%20secundario.doc>

-
19. Saeed Arayne M, Najma S, Agha Zeeshan M, M. Hashim Z, Farhan Ahmed S. 2007. *J.Pharm. Sci.* 20, 261-268.
 20. Tránsito López L. 2005. *Fitoterapia.* (5) 25, 82-88.
 21. Tane P, Tsopmo A, Ngnokam D, Ayafor J F, Sterner O. 1996. *Tetrahedron.* (47), 14989.
 22. Neqman A A. 1992. Academic press.
 23. http://mail.fq.edu.uy/~planta/pdf/Quimica%20PN%0PE2000/viaIPP_2005.pdf
 24. [http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/0/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/\\$File/web_terpenos.htm](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/0/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/$File/web_terpenos.htm).
 25. Nozaki H, Matsuura Y, Hirono S, Kasai R, Chang J J, Lee K. 1990. *J. Nat. Prod.* (53), 1039.
 26. Ruzicka L. 1953. *EXPERIENCIA.* 9, 357
 27. Cram J, Hammond G. 1959. *Organic Chemistry.* 559.
 28. Varkony T.H., Smith D.H., Djerassi C., *TETRAHEDRON* 34, 841 (1978).
 29. Duque C, Martínez A, Peñuela G. 1983. *REV. COL. QUIM.* 12(1) 51.
 30. Andres S, Estevez F, Simón Carballo R, Almeida G, Ana M. Quintela peña, Alfonso M A. 2001. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc.* 1(1), 10-14.
 31. Claudia Kuk/NSKI. 2000. *Farmacognosia.* 131,154-156.
 32. Andrade-Cetto A, Heinrich M. 2005. *Journal of Ethnopharmacology.* 99, 325–348
 33. Ikan R. 1991. *Natural Products a Laboratory Guide.* Academic Press, USSA.

-
34. Mahato S B, Nandy A K, Roy G. 1992. *Phytochemistry*. 31, 2199-2249
35. claudia Kuklinski 2003. *Farmacognosia*. Ed. Omega pg. 150-151.
36. F.J. Alarcón-Aguilar, E. Hernández-Galicia. Et. al. 2002. *Journal of Ethnopharmacology*. 82, 185-189
37. http://books.google.com.mx/books?id=Np_iUsNs8GoC&pg=PA50&lpg=PA50&dq=procedimiento+separacion+de+acidos+y+neutros&source=bl&ots=iWmaumEO0U&sig=DI66UlwCtIBnNRUiuYEqzM1ApiQ&hl=es&ei=xvzwSbeYPIvolAfu6d2yDA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6#PPA52,M1
38. Andrade-Cetto, A. Wiedenfeld, H. 2004. *Journal of Ethnopharmacology*. 90, 217-220.
39. Fu Caili, Shi Huan, Li Quanhong. 2006. *Plant Foods fro Human Nutriron*. 1, 73-80
40. M. Asif Saeed and A.W. Sabir. 2003. *Journal of Asian Natural Products Research*. 5(1), 35-41.
41. Kuo Y H, Yang-Kio L M. 1997. *Phytochemistry*. 44, 1257.
42. Mangas Marín R, Montes De Oca Porto R, Bello Alarcón A, Nival Vázquez Lavín A. 2008. *Lat. Am. J. Pharm.* 27 (5): 747-51
43. Richard E, Ostlund Jr, Janet B, McGill Ian Herskowitz, David M Kipnis, Julio V Santiago, William R Sherman. 1993. *Proc. Natl.* 90, 9988-9992.
44. Pollock J R A, Stevens R. 1965. *Dictionary of Organic Compounds*, 4th Ed. (Eyre and Spottiswoode Publisher, London) 1, 409-410
- Massanobu M, Gakuzo T. 1981. *Agric. Biol. Chem.* 45, 2149-2150
45. Xue-Mei Ma, Duo-Long Di, and Yan-Ping Shi. 2008. *Chemistry of Natural Compounds*, 44, 399-401.
46. Michael Podeschwa, Oliver Plettenburg, Jochen vom Brocke, Oliver Block, Stephan, and Hans-Josef Altenbach. 2003. *Eur. J. Org. Chem.* 1958-1972.
47. Peter, S.R., Tinto, W.F., Mclean, S., Reynolds, W.F. and Tay, L.L. 1997, *Tetrahedron Lett.* 38, 5767-5770
48. Masanobu Munekata and Gakuzo Tamura. 1981. *Agric. Biol. Chem.*, 45(9), 2149-2150

49. H. X. Wang and T.B. Ng. 1999. *Life Sciences*, 65 (25), 2663-2677.