



---

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Efecto antidiabético del extracto de *Annona cherimola*  
Mill. y antidiabéticos orales en un modelo murino

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

PRESENTA

CÉSAR MORONI MONTIEL RUIZ

ASESOR: DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO

COASESOR: QFB. BRÍGIDA DEL CARMEN CAMACHO ENRÍQUEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2015



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto antidiabético del extracto de *Annona Cherimola Mill* y antidiabéticos orales en un modelo murino.

Que presenta el pasante: César Moroni Montiel Ruiz  
Con número de cuenta: 305278768 para obtener el Título de la Química Farmacéutico Biológica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de Junio de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Luisa Martínez Aguilar	
<b>VOCAL</b>	Q. Mario Arturo Morales Delgado	
<b>SECRETARIO</b>	Q.F.B. Brigida del Carmen Camacho Enriquez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M.C. Lidia Rangel Trujano	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M.F.C. Cecilia Hernández Barba	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/mmgm\*

# AGRADECIMIENTOS

A mi Padre Celestial por darme la vida y por darme la oportunidad de poder tener una carrera, gracias porque me dio una familia en la cual también me apoyaron mucho.

A mis compañeros de la Facultad que me ayudaron, me enseñaron, me apoyaron y que gracias a ellos, este paso que se hace se podrá cumplir. También a las personas que conocí en la Unidad de Farmacología del IMSS por su gran apoyo y también su paciencia en lograr esta tesis a Miguel y Verence por su amistad brindada muchas gracias y por dejar también ser parte de este equipo de trabajo por sus consejos, ayuda, por guiarme y enseñarme. A Jesús y Roció que me aconsejaron me ayudaron en realizar este trabajo; Omar, Sharai y Mar que conocí.

También agradecer por las personas que me ayudaron en esta tesis como el Dr. Fernando Calzada por aceptarme en realizar la tesis, por su paciencia hacia mí y por su apoyo en lograr este trabajo. La QFB Brígida Camacho por su ayuda en poder realizar esta tesis.

A los sinodales de tesis por sus consejos y guía para que este trabajo pudiera ser como ellos esperan de un egresado de la Facultad, un profesional gracias por su apoyo. Dra. Luisa, QFB Brígida, M. en C. Lidia. Q. Mario Arturo y M. en F. Cecilia.

También gracias al Bioterio del CMN S XXI del IMSS, porque se realizó el trabajo y siempre hubo esa disposición de poder tener lo necesario para tener trabajo.

# DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo y logro a mi madre María Elena que me cuidó confió en mí y me apoyo, madre se ha logrado, esas desveladas que te hacía pasar por mí y los sustos en que llegaba tarde pero valió la pena madre mía.

A mi padre José Luis aunque estaba lejos en ese momento escuchaba sus consejos y ayuda en poder aprender a valorar todo lo que tenía, ahora pues ya estamos otra vez unidos y ahora a seguir adelante.

A mi hermanos mayores Lehi y Luis que ahí también les toco ser parte de este logro gracias también por sus preocupaciones, ayuda y porque son parte de mi vida.

A esas grandes personas que conocí en Sinaloa y la Baja Sur, tanto a los nativos de ahí como a mi compañeros de trabajo gracias por su ayuda, ya que me enseñaron a poder saber que siempre se puede lograr lo que uno se propone aunque sea vea difícil o imposible pero confiando y pidiendo ayuda a NPC.

Y esa gran persona que conocí este año a Diana, porque también con su sabiduría, ayuda y apoyo; pude hacer este trabajo y ella sabía que podría hacerlo y por brindarme principalmente su amistad y cariño hacia mí.

## SITIO DE REALIZACIÓN

Esta tesis se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología – CORCE UMAE Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

El presente proyecto está registrado ante la UMAE Hospital de Especialidades del CMN SXXI IMMS con número de registro: R-2012-3601-18; Financiamiento: FIS/IMSS/PROT/G12/1110.

# ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	i
ÍNDICE DE GRÁFICAS	ii
ÍNDICE DE DIAGRAMAS	iv
ABREVIATURAS	v
<b>1. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.1 OBJETIVOS</b>	<b>1</b>
Objetivo general	1
Objetivo particulares	1
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
2.1 <i>Diabetes mellitus</i> (DM)	2
2.1.1 DM en México	2
2.1.2 Epidemiología de la DM en el mundo y en México	2
2.1.3 Clasificación de la DM	3
2.1.4 Diagnóstico de hiperglucemia con base a las concentraciones de glucosa	4
2.1.5 Tratamiento de la DM	4
2.2 Hipoglucemiantes orales	5
2.2.1 Sulfonilureas	5
2.2.2 Binguanidas	6
2.2.3 Inhibidores de $\alpha$ -glucosidasa	7
2.3 Medicina tradicional	8
2.4 La herbolaria una alternativa en el control de la <i>Diabetes mellitus</i> tipo 2 (DM2)	8
2.5 Generalidades de la <i>Annona cherimola</i> Mill.	9
2.5.1 <i>Annona cherimola</i>	10
2.5.2 Actividad biológica	11
2.5.3 Composición química	11
<b>3. MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>13</b>
3.1 Obtención del extracto de <i>Annona cherimola</i> Mill.	13
3.1.1 Identificación del material vegetal de <i>Annona cherimola</i> Mill.	13
3.1.2 Preparación del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> Mill.	13
3.2 Pruebas biológicas	13
3.2.1 Animales	13
3.3 Preparación de las muestras	13

3.4	Inducción de DM2 a ratones hembra-----	13
3.5	Pruebas antidiabéticas-----	14
3.5.1	Modelo agudo en ratones hembras sanas -----	14
3.5.2	Modelo agudo en ratones hembra diabéticas -----	14
3.5.3	Administración del extracto etanólico de <i>Annona cherimola</i> (EEAc) en combinación con fármacos antidiabéticos orales en un modelo agudo en ratones hembra diabéticas----	15
3.5.4	Modelo crónico en ratones hembra diabéticas -----	15
3.6	Análisis estadístico-----	15
3.7	Diagramas de Flujo -----	16
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS -----</b>	<b>22</b>
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS -----</b>	<b>27</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES -----</b>	<b>43</b>
<b>7.</b>	<b>PROSPECTIVAS -----</b>	<b>44</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA -----</b>	<b>45</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Comparación de glucemias de animales sanos tratados con EEAc.	22
Tabla 2.	Comparación de glucemias de animales sanos tratados con metformina.	22
Tabla 3.	Comparación de glucemias de animales sanos tratados con acarbosa.	23
Tabla 4.	Comparación de glucemias de animales sanos tratados con glibenclamida.	23
Tabla 5.	Valores de glucemias de las dosis efectivas para los animales sanos tanto para el EEAc, metformina, acarbosa y glibenclamida	23
Tabla 6.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAc.	24
Tabla 7.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con metformina.	24
Tabla 8.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con acarbosa.	25
Tabla 9.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con glibenclamida.	25
Tabla 10.	Valores de glucemias de las dosis efectivas para animales con DM2 el EEAc, metformina, acarbosa y glibenclamida.	25
Tabla 11.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAc metformina, EEAc + metformina y controles.	26
Tabla 12.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAC, acarbosa, EEAc + acarbosa y controles.	26
Tabla 13.	Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAC, glibenclamida, EEAc + glibenclamida y controles.	26
Tabla 14.	Glucemias de animales con DM2 tratados con EEAC (900 mg/kg) y sin tratamiento durante 4 semanas.	27

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.	Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con EEAc a diferentes dosis.	28
Gráfica 2.	Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con metformina a diferentes dosis.	29
Gráfica 3.	Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con acarbosa a diferentes dosis.	30
Gráfica 4.	Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con glibenclamida a diferentes dosis.	31
Gráfica 5.	Glucemias de animales sanos tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida.	32
Gráfica 6.	Glucemias de animales sanos tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida.	33
Gráfica 7.	Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sano y con EEAc a diferentes dosis.	34
Gráfica 8.	Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sano y con metformina a diferentes dosis.	35
Gráfica 9.	Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sano y con acarbosa a diferentes dosis.	36
Gráfica 10.	Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sano y con glibenclamida a diferentes dosis.	37
Gráfica 11.	Glucemias de animales DM2 tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida.	38
Gráfica 12.	Glucemias de animales DM2 tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida.	38

Gráfica 13.	Glucemias de animales controles DM2, controles sanos, tratados con EEAc, metformina y combinación.	39
Gráfica 14.	Glucemias de animales controles DM2, controles sanos, tratados con EEAc, acarbosa y combinación.	40
Gráfica 15.	Glucemias de animales controles DM2, controles sanos, tratados con EEAc, glibenclamida y combinación.	41
Gráfica 16.	Glucemias del tratamiento crónico del EEAc en ratones con DM2.	42
Gráfica 17.	Glucemias de comparación del crónico entre animales sin tratamiento con DM2 y tratados con EEAc a 900 mg/kg.	42

## ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1.	Colecta e identificación.	16
Diagrama 2	Preparación del extracto etanólico de la hoja de <i>Annona cherimola</i> Mill.	17
Diagrama 3.	Inducción de DM2 a ratones hembra sanas.	18
Diagrama 4.	Pruebas biológicas agudas.	19
Diagrama 5.	Prueba antidiabética administrando EEAc + hipoglucemiantes orales.	20
Diagrama 6.	Prueba antidiabética crónica del EEAc (900 mg/kg).	21

## ABREVIATURAS

DE	Desviación Estándar
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DMSO	Dimetilsulfóxido
EEAc	Extracto etanólico de <i>Annona cherimola</i> Mill.
g	gramos
h	horas
ip	Intraperitoneal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
Kg	Kilogramo
L	Litro
mg	miligramo
mg/dL	miligramo por decilitro
mg/kg	miligramo por kilogramo
mL	mililitro
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
t	tiempo

# 1. JUSTIFICACIÓN

La *Diabetes mellitus* es una enfermedad que en las últimas décadas ha ido avanzando; México ésta en octavo lugar; alrededor de 2,179,000 habitantes padecen de diabetes. En mortalidad ocupa el segundo lugar en las Américas después de Brasil, se espera, de acuerdo a datos de la Organización Mundial de la Salud, que en el 2030 existan 347,000 000 personas con diabetes; no obstante se cuenta con fármacos para su control, estos son costosos y tienen efectos adversos; existiendo la necesidad de contar con nuevos agentes antidiabéticos, alternativas más baratas, menos tóxicas y más accesibles. En base a lo anterior, el presente trabajo se enfocó en dar una alternativa de tratamiento de la *Diabetes mellitus* con una fuente natural como la *Annona cherimola* Mill. y con medicamentos antidiabéticos orales. El estudio aporta información sobre la farmacológica de la especie vegetal, de la flora tradicional mexicana y su uso en la medicina.

## 1.1 OBJETIVOS

### Objetivo general

Determinar el efecto antidiabético potencial del extracto etanólico de *Annona cherimola* Mill., en ratones hembra de la cepa Balb/c; para justificar y/o explicar su uso en la medicina tradicional de México

### Objetivo particulares

- Determinar el efecto sobre la concentración de glucosa en sangre del EEAc y tres antidiabéticos orales (metformina, acarbosa y glibenclamida) en ratones sanos.
- Determinar el efecto sobre la concentración de glucosa en sangre del EEAc y tres antidiabéticos orales en ratones con hiperglucemia.
- Determinar el efecto sobre la concentración de glucosa en sangre en ratones hembra con hiperglucemia causada por la administración combinada del EEAc más antidiabéticos orales.

- Determinar el efecto sobre la concentración de glucosa en sangre del EEAc, en un modelo crónico en ratones hembra con hiperglucemia, para ver su posible aplicación como tratamiento a largo plazo.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 *Diabetes mellitus* (DM)

Es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula la glucosa en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de glucosa en la sangre), que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos (WHO, 1999).

#### 2.1.1 DM en México

En México la DM y en especial la DM2 se ha convertido en un problema de salud pública, debido a que el país ha experimentado cambios rápidos en los patrones de dieta combinada con una baja o nula actividad física, han provocado un aumento en los índices de obesidad, la cual es la principal causa de DM2. En México paso de ser la decimoprimer causa de muerte en 1980 a la segunda para el año 1997, en la actualidad sigue siendo la segunda causa de muerte en México solo después de las enfermedades cardiovasculares (Flores, 1997).

#### 2.1.2 Epidemiología de la DM en el mundo y en México

La DM es una de las enfermedades que presenta el mayor impacto socio-sanitario ya que se calcula que:

- En el mundo hay el 4.7% de la población con diabetes
- Se calcula que en 2012 fallecieron 1.5 millones de personas (Systems, 2012).
- Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios.

- Según proyecciones de la OMS, a nivel mundial la diabetes será la séptima causa de mortalidad y habrá más 347 millones de personas con diabetes en 2030 (WHO, 1999).
- En México alrededor de 11.7 millones serán diagnosticados con diabetes para el año 2030 (Flores, 1997).

### 2.1.3 Clasificación de la DM

La DM se clasifica en cuatro grupos:

- ◆ *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1): denominada juvenil o dependiente de insulina; en la que existe destrucción de células beta del páncreas, generalmente con deficiencia absoluta de insulina debido a un proceso autoinmune, se caracteriza por insulinopenia, que determina el cuadro clínico y su tratamiento (WHO, 1999; Flores, 1997).
- ◆ *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2): presenta resistencia a la insulina y en forma concomitante con deficiencia en su producción, puede ser absoluta o relativa (NOM, 2010); el páncreas segrega cantidades muy variables de insulina, de forma que su concentración plasmática puede ser normal o incluso superior a la normal, pero relativamente insuficiente para mantener niveles normales de glucemia; se puede hablar de una deficiencia relativa en la secreción pancreática de la hormona (WHO, 1999; Flores, 1997).
- ◆ Diabetes gestacional: es la alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono que se detecta por primera vez durante el embarazo, ésta traduce una insuficiencia a la adaptación de insulinoresistencia que se produce en la gestante. Las mujeres con diabetes gestacional corren mayor riesgo de sufrir complicaciones durante el embarazo y el parto, y de padecer diabetes de tipo 2 en el futuro (Bruton et al., 2008).
- ◆ Otros tipos específicos de diabetes, que en general se apartan de la frecuencia de la DM1 y DM2, son aquellas en las que se engloban:
  - ❖ Diabetes de jóvenes, de inicio en la madurez (MODY; mutaciones del gen que codifica para la glucocinasa).



- ❖ Mutaciones del receptor de insulina.
- ❖ Mutaciones del gen que codifica para la insulina.
- ❖ Diabetes tropical (pancreatitis crónica relacionada con factores nutricionales o tóxicos).
- ❖ Diabetes consecutiva a enfermedades del páncreas o intervención quirúrgica del mismo.
- ❖ Diabetes relacionada con síndromes genéticos (Síndrome de Prader-Willi).
- ❖ Diabetes consecutiva a endocrinopatías (Blengio et al., 2006).

#### 2.1.4 Diagnóstico de hiperglucemia con base a las concentraciones de glucosa

Los parámetros de glucosa normal son 70-100 mg/dL con 8 h de ayuno y en la prueba de tolerancia a la glucosa a las 2 h debe ser menor a 140 mg/dL para ser considerada normal (WHO, 1999).

Para un diagnóstico de hiperglucemia se debe considerar:

- \* Tener una glucosa mayor a 125 mg/dL en ayunas.
- \* Valores de la glucosa en la prueba de tolerancia: Se realiza por medio de una administración oral de glucosa (75 g), midiéndose la glucemia a las 2 h después de la ingesta, un valor entre 140-200 mg/dL, se denomina alteración de la tolerancia a glucosa, un valor mayor a 200 mg/dL es indicativo de la presencia de diabetes.
- \* Valores de glucosa en *Diabetes mellitus*: Ésta a su vez se diagnostica por tres signos: glucosa en ayunas mayor a 125 mg/dL, manifestación de síntomas clásicos de la DM (polidipsia, polifagia y poliuria) y prueba de tolerancia a la glucosa mayor a 200mg/dL (WHO, 1999).

#### 2.1.5 Tratamiento de la DM

La terapéutica en el control de la diabetes se centra en dos objetivos relacionados:

- Mejorar la utilización de la glucosa y otros nutrientes en los tejidos (aminoácidos, glicerol, ácidos grasos y cuerpos cetónicos).

- Normalizar al máximo posible los niveles de glucemia sin perturbar de manera notable el estilo de vida del paciente.

Como consecuencia, se previenen un buen número de graves complicaciones como:

- retinopatía
- aterosclerosis de diversas localizaciones
- nefropatía
- neuropatía (Bruton et al., 2008).

El tratamiento actual del enfermo diabético exige un abordaje múltiple. Este tratamiento se basa, lógicamente, en la dieta ajustada a las necesidades vitales de cada persona, en la insulina y en los diversos fármacos orales que, por uno u otro mecanismo, consiguen reducir los niveles de glucemia. Pero a ello, hay que añadir las acciones terapéuticas dirigidas a reducir la enfermedad vascular con sus múltiples manifestaciones sistémicas, a tratar la obesidad, o a aliviar el dolor neuropático (Bruton et al., 2008).

## 2.2 Hipoglucemiantes orales

Un conjunto de fármacos que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia luego de su administración oral (Blengio et al., 2006).

### 2.2.1 Sulfonilureas

Las sulfonilureas se dividen tradicionalmente en dos grupos. El primer grupo incluye tolbutamida, acetohexamida, tolazamida y clorpropamida. Ha surgido un segundo grupo gliburída (glibenclamida) (Figura 1), glipizida y gliclazida son mucho más potentes que la tolbutamida, acetohexamida, tolazamida y clorpropamida (Blengio et al., 2006).

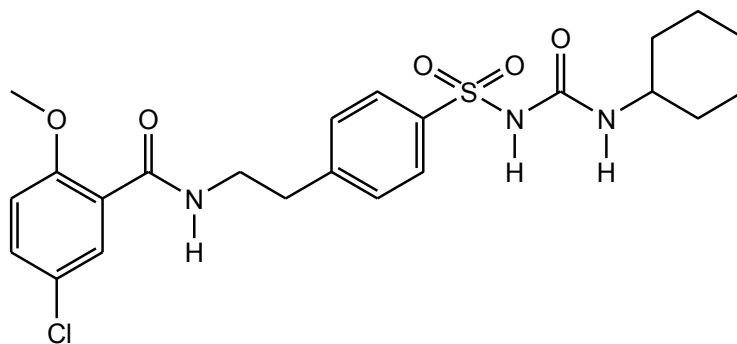


Figura 1. Glibenclamida

Acción farmacológica: estimula la liberación de insulina a partir de las células pancreáticas, también pueden incrementar las cifras de insulina al reducir la depuración de la hormona en el hígado. En el transcurso de los meses iniciales de la terapéutica, hay aumento de las concentraciones, plasmáticas de insulina en ayuno, así como de las respuestas con insulina ante exposición a glucosa por vía oral. Con la administración crónica, la insulina declina hasta llegar a las cifras previas al tratamiento, pero, a pesar de esta reducción de las concentraciones de insulina, se conservan cifras plasmáticas reducidas de glucosa (Blengio et al., 2006).

Reacciones adversas: la más frecuente es la hipoglucemia, que puede ser muy intensa e incluso mortal, y mantenida aunque se la trate con soluciones de glucosa. Por ello, el empleo de hipoglucemiantes orales ha de ser restringido e incluso evitado en los ancianos y en los enfermos hepáticos y renales, y deben tenerse en cuenta las interacciones que incrementen la actividad de estos fármacos (Blengio et al., 2006).

### 2.2.2 Binguanidas

El grupo de las binguanidas se incluyen a la metformina, la fenformina y la buformina. La metformina (Figura 2) administrada sola o en combinación con una sulfonilurea mejora el control de la glucosa y las concentraciones de lípidos en sujetos que muestran poca respuesta a la dieta a una sulfonilurea sola (Flores, 1997; Bruton et al., 2008).

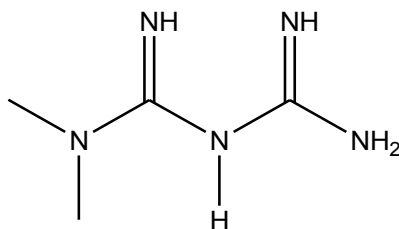


Figura 2. Metformina

Acción farmacológica: aumentan el metabolismo de la glucosa en los tejidos, en particular de la glucólisis anaerobia, reducción de la gluconeogénesis hepática e inhibición de la absorción de glucosa, aminoácidos y otros compuestos a nivel intestinal. A nivel subcelular se fijan a la membrana mitocondrial, donde podrían alterar los sistemas de

transporte; reducen la hiperglucemia basal y posprandial. Como consecuencia de su actividad metabólica, aumentan los niveles de lactato y piruvato; a largo plazo, disminuyen los niveles de colesterol y triglicéridos, lo que puede ser útil en diabéticos con valores aumentados de VLDL (Flores, 1997; Bruton et al., 2008).

Reacciones adversas: las más frecuentes son las gastrointestinales (náuseas, molestias abdominales y diarrea) que aparecen del 5-20% de los pacientes. La reacción más grave, aunque rara, es la acidosis láctica, que puede llegar a ser letal, pero sólo aparece si se dan dosis tóxicas o dosis normales en pacientes con insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca, enfermedad hepática, alcoholismo o en mujeres embarazadas; es decir, situaciones del metabolismo celular que favorece la producción de lactato. No se debe usar, por lo tanto, en éstos enfermos con cetoacidosis diabética, insuficiencia pulmonar, alcoholismo, y en situaciones en las que pueda haber acumulación de lactato (Flores, 1997; Bruton et al., 2008).

### 2.2.3 Inhibidores de $\alpha$ -glucosidasa

Los inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa reducen la formación de monosacáridos y, consiguientemente, la disponibilidad de la glucosa y otras hexosas para ser absorbidas en el intestino. Se conocen varios inhibidores de estas enzimas (acarbose, voglibosa y miglitol), de los tres el utilizado en la clínica es la acarbose (Figura 3) (Bruton et al., 2008).

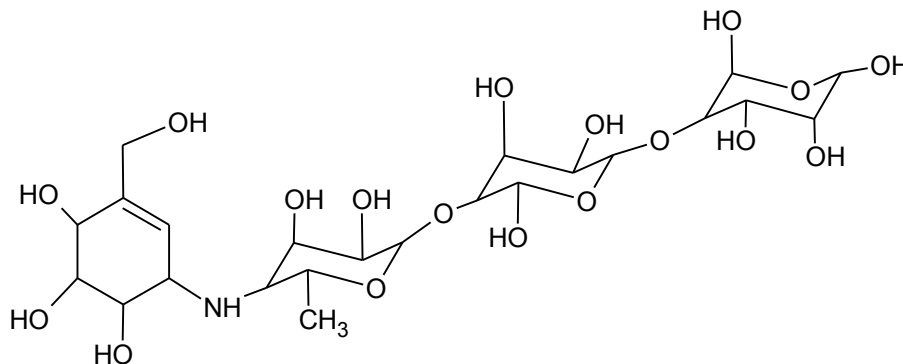


Figura 3. Acarbose

Acción farmacológica: se administra en pacientes con DM de tipo 2, que suelen carecer de la primera fase secretora de insulina y sufren un retraso en la segunda fase, disminuye

la hiperglucemia posprandial alrededor del 20%, siendo menos constante la reducción de insulina y triglicéridos. Disminuye también la hemoglobina glucosilada. Puede utilizarse conjuntamente con glibenclamida, metformina o insulina. Puesto que llega mayor cantidad de carbohidratos al colon, existe mayor producción colónica de ácidos grasos de cadena corta (acetato, butirato y propionato), pudiendo aumentar los niveles plasmáticos (Bruton et al., 2008).

Reacciones adversas: son de carácter gastrointestinal en forma de flatulencia, distensión abdominal, diarrea y borborigmos, provocada por la fermentación de los carbohidratos no absorbidos. Estos síntomas suelen mejorar al avanzar con dosis bajas y reducir la ingesta de disacáridos. Por si misma no parece que produzca hipoglucemia, pero puede aparecer cuando se asocia a sulfonilureas o insulina; en tal caso debe administrarse lógicamente glucosa porque los azúcares más complejos no serían absorbidos. Cerca del 4% de los pacientes pueden mostrar elevación de transaminasas hepáticas, por lo que debe evitarse en caso de insuficiencia hepática, así como, en presencia de resección intestinal o de enfermedad inflamatoria intestinal (Bruton et al., 2008).

### 2.3 Medicina tradicional

Es el conjunto de prácticas, sean susceptibles de explicación o no, utilizados para prevenir, diagnosticar y eliminar los desequilibrios físicos, mentales y sociales, exclusivamente sobre las bases de las experiencias y las observaciones prácticas transmitidas sucesivamente de una generación a otra, de manera verbal o por escrito. También puede considerarse como una práctica médica activa y la experiencia ancestral (Morón y Levy, 2002).

### 2.4 La herbolaria una alternativa en el control de la Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2)

Las plantas son utilizadas por un 80% de la población para satisfacer o complementar sus necesidades médicas, a nivel mundial son utilizadas más de 1200 plantas medicinales en el control de la DM. Algunas de estas plantas han sido objeto de estudios

farmacológicos exhaustivos dirigidos hacia la validación de sus propiedades antidiabéticas, sin embargo, no se han sometido a estudios sistematizados (Solares, 2015).

En el caso de México alrededor de 383 plantas han sido descritas en el tratamiento y control de la diabetes, de ellas se han aislado alrededor de 150 compuestos antidiabéticos algunos de estos han sido objeto de estudio de tipo clínico y preclínico, del 19% de las plantas estudiadas los resultados han sido negativos o contradictorios (Solares, 2015).

A nivel mundial se reconoce el uso de plantas en el tratamiento de la diabetes. Algunas familias botánicas que contribuyen con especies reportadas como antidiabéticas son: Fabaceae, Asteraceae, *Lamiaceae*, Liliaceae, Poaceae y Euphorbiaceae, entre otras. Las plantas que se mencionan a nivel mundial son éstas: *Catharanthus roseous* (Apocynaceae), *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), *Aloe vera* (Liliaceae), *Syzygium cumini* (Myrtaceae), *Tecoma stans* (Bignoniaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae), *Lupinus albus*, *Trigonella foenumgraceum* (Fabaceae), *Allium cepa* y *Allium sativum* (Liliaceae) y *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) son unas de las plantas más ampliamente estudiadas (Solares, 2015).

En el caso de México algunas plantas para el control de la diabetes son: *Annona cherimola* (Annonaceae), *Ibervillea sonorae* (Cucurbitaceae), *Cecropia obtusifolia* (Cecropiaceae), *Equisetum myriochaetum* (Equisetaceae), *Acosmium panamense*, *Agarista mexicana* (Ericaceae), *Brickellia veronicaefolia* (Asteraceae), *Parmentiera aculeata* (Bignoniaceae), entre otras (Solares, 2015; Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

## 2.5 Generalidades de la *Annona cherimola* Mill.

Las *Annonaceas* son una familia importante en el orden Magnoliales. Esta familia suma aproximadamente 120 géneros, pero solo tres producen frutos comestibles, ellas son: *Aimisa*, *Rollinia* y *Annona*. Existen 2100 especies de la *Annona* y las más importantes a nivel comercial son:

- ✓ *Annona squamosa* (soncoya)

- ✓ *Annona muricata* (guanábana)
- ✓ *Annona cherimola* (chirimoya) (Mogrovejo, 2009)

Algunos miembros de la familia producen alcaloides del grupo bencil-isoquinolina, otros acumulan sílice, taninos y proantocianinas, aceites esenciales y oxalato de calcio (Castro, 2007).

En países, como Perú, Chile, España y México, el fruto de *Annona cherimola* es conocido como “chirimoya”, mientras que en Costa Rica se le da el nombre de “anona” (Castro, 2007).

### 2.5.1 *Annona cherimola*

#### 2.5.1.1 Descripción

La *Annona cherimola* (Figura 4) se caracterizan por poseer hojas comúnmente angostas en los extremos, sus frutos son globosos, con pequeñas ondulaciones, la pulpa es blanca y las semillas son negras (Solares, 2015).



Figura 4. Hojas y fruto de *Annona cherimola* Mill.

Fuente [www.lajornadanet.com/diario/archivo/2011/mayo/20/9.php](http://www.lajornadanet.com/diario/archivo/2011/mayo/20/9.php)

### 2.5.1.2 Taxonomía

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la *Annona cherimola* Mill. (Castro, 2007).

<b>Reino:</b>	<b>Plantae</b>
<b>Filo:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Sub Clase:</b>	Magnoliidae
<b>Orden:</b>	Magnoliales
<b>Familia:</b>	Annonaceae
<b>Genero:</b>	<i>Annona</i>
<b>Especie:</b>	<i>cherimola</i>

### 2.5.2 Actividad biológica

Los extractos del fruto presentan hipolipemiente, antioxidante, contra la peroxidación lipídica (UNAM, 2009), también un efecto de protección en linfocitos aislados de sangre periférica en humanos (Monteiro et al., 2013).

Las hojas son la parte más empleada, en la República Mexicana se usa popularmente en problemas gastrointestinales como: disentería, diarrea, infección intestinal, vomito, flatulencias, úlceras y como purgante (UNAM, 2009).

En enfermedades del sistema respiratorio como: en casos de tos, resfríos, para los bronquios, gripe y pulmonía (UNAM, 2009).

De los estudios biológicos, el extracto clorofórmico de las hojas de *Annona cherimola* presenta actividad antimicrobiana en: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium phlei* (Solares, 2015) y *Helicobacter pylori* (Castillo et al., 2009). El extracto etanólico de semillas secas fue evaluado *in vitro* mostrando actividad estimulante en útero de cobayos (Solares, 2015). Del extracto de las hojas se tiene actividad ansiolítica y antidepresiva en ratones (López et al., 2006; Martinez et al., 2012).

### 2.5.3 Composición química

De los estudios realizados en relación a sus compuestos químicos ésta planta se caracteriza por la presencia de alcaloides como la: anonaína y la liriodenina, las cuales



se han detectado en toda la planta; del tallo se han aislado los alcaloides anolobina, asimilobina, el metil-asimilobina, cordina, coripalmina, discretamina, glaziovina, laniginosina, lisicamina, nuciferina, tetrahidropalmitina, nor-ushinsunina, boldina, reticulina y estefilidina; en la semilla se han aislado otros alcaloides no-isoquinolínicos como cafeína y celeistopholina, y el esteroide daucosterol. Adicionalmente de la hoja se han aislado los alcaloides rituberina, normanteína y también los flavonoides quercetina, isoquercitrina y rutina (Solares, 2015) (Figura 5).

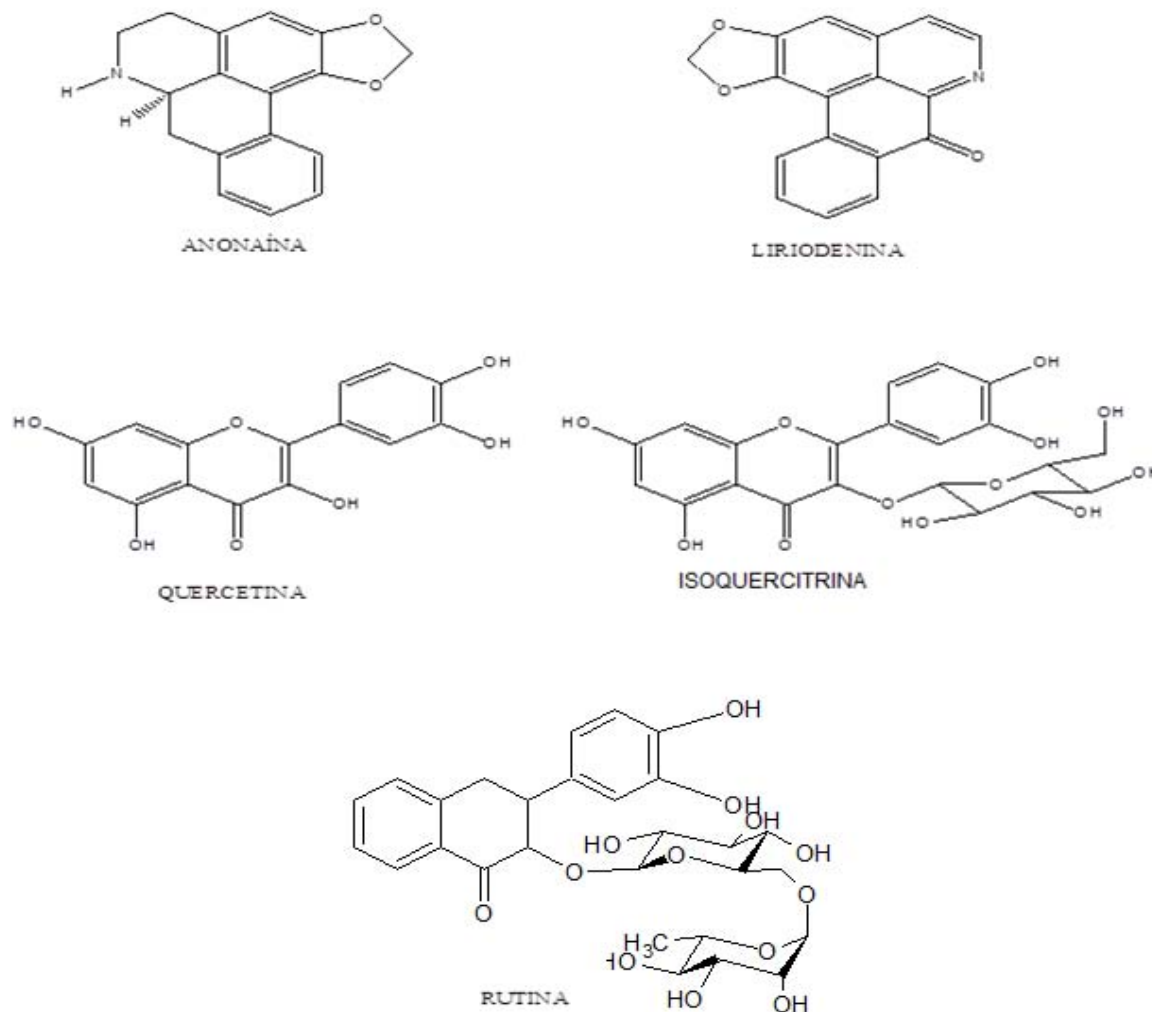


Figura 5. Estructura química de algunos alcaloides y flavonoides aislados de la hoja de *Annona cherimola* Mill.

Fuente (Solares, 2015)

### 3. MATERIAL Y MÉTODO

#### 3.1 Obtención del extracto de *Annona cherimola* Mill.

##### 3.1.1 Identificación del material vegetal de *Annona cherimola* Mill.

Se usaron hojas de la especie vegetal *Annona cherimola* Mill. Las cuales se recolectaron en la localidad de San José en la Delegación Tláhuac de la Ciudad de México. Y se llevaron al Herbario del IMSS a su identificación.

##### 3.1.2 Preparación del extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimola* Mill.

La obtención del extracto etanólico se realizó según los métodos previamente descritos (Calzada et al., 2003; Velázquez et al., 2006) en los que las hojas de la planta (2.9 kg) se dejaron secar a temperatura ambiente (7 días) y se molieron con un molino Tor-rey, posteriormente se extrajeron por maceración en etanol (10 L x 2 x 1 semana) el extracto fue evaporado hasta sequedad por medio de un rotavaporador.

#### 3.2 Pruebas biológicas

##### 3.2.1 Animales

Se usaron 270 ratones hembras de la cepa Balb-c del bioterio del CMN SXXI IMSS, de un peso promedio de  $22 \pm 1$  g, se mantuvieron en condiciones óptimas de luz/oscuridad en ciclos de 12/12 h, temperatura controlada y con libre acceso de agua y alimento, según la NOM 062-ZOO-1999. Fueron colocados en grupos de 6 animales por lote. Los ratones sanos y diabéticos se dejaron *ad libitum* el tiempo en que se usaron para las pruebas.

##### 3.3 Preparación de las muestras

Los fármacos que se administran por vía intragástrica fueron metformina (Pisa), acarbosa (Bayer) y glibenclamida (Brucen) y el extracto etanólico de *Annona cherimola* (EEAc) las muestras se disolvieron en una solución acuosa de DMSO al 2% (0.5 mL por animal). Se realizó un estudio usando dosis creciente múltiplos de 100 mg/kg para encontrar la dosis efectiva y la dosis adecuada para los estudios de las pruebas biológicas aguda, combinación y crónicas.

##### 3.4 Inducción de DM2 a ratones hembra

Se deja en ayuno a los ratones sanos por 24 h. Se administra a los ratones aloxana (aloxana monohidratada Sigma-Aldrich®) una dosis de 100 mg/kg (x 2 x 72 h) disuelta en

agua inyectable que se administra a un volumen de 0.5 mL por animal, por vía intraperitoneal y dejar con solución glucosada al 10% en su bebedero. Después de la segunda administración 7 días después se mide la glucosa usando un glucómetro (Evolution Infopia, USA LLC®) basado en el método enzimático de la glucosa oxidasa. Los animales con glucemia  $\geq 200$  mg/dL (Porasu y Suguna, 2015; Onge et al., 2015) son considerados diabéticos y seleccionados para las pruebas posteriores. La aloxana es un derivado cíclico de la urea y es un potente agente diabetógeno, ampliamente usado para la inducción de diabetes en animales, se ha reportado que el aloxana tiene afinidad y selectividad específica hacia las células  $\beta$  del páncreas, y el daño es por la generación de especies reactivas de oxígeno citotóxicas, puede dañar el DNA de las células  $\beta$  mediante una fragmentación del DNA por un incremento en el  $\text{Ca}^{2+}$  del citosol (Morón y Levy, 2002; Listyacahyani et al., 2014). Este procedimiento es ampliamente utilizado en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología (Solares, 2015).

### 3.5 Pruebas antidiabéticas

#### 3.5.1 Modelo agudo en ratones hembras sanas

A diferentes lotes de 6 animales cada uno se les sometió al tratamiento los cuales fueron: extracto etanólico de *Annona cherimola* a dosis de (100, 200, 300, 400, 600, 900 y 1200 mg/kg), metformina a (100, 200, 400 y 850 mg/kg), acarbosa a (25, 50 y 100 mg/kg) y/o glibenclamida a (1.25, 2.5, 5 y 10 mg/kg). Se midieron la concentración de glucosa a tiempo 0, antes de la administración del tratamiento y a las 2 h y 4 h después de haberse administrado el tratamiento. El grupo control solo se le administró 0.5 mL de vehículo (DMSO al 2% en agua).

#### 3.5.2 Modelo agudo en ratones hembra diabéticas

A diferentes lotes de 6 animales cada uno previamente seleccionados con valores de glucosa sanguínea  $\geq 200$  mg/dL (Wang et al., 2015) fueron sometidos a tratamientos, se les administró extracto etanólico de *Annona cherimola*, metformina, acarbosa y/o glibenclamida a dosis de (100, 300, 600, 900 y 1200 mg/kg). Se midieron la concentración de glucosa a tiempo 0, antes de la administración del tratamiento a las 2 h y 4 h después

de haberse administrado el tratamiento. El grupo control se le administró 0.5 mL de vehículo (DMSO al 2% en agua).

3.5.3 Administración del extracto etanólico de *Annona cherimola* (EEAc) en combinación con fármacos antidiabéticos orales en un modelo agudo en ratones hembra diabéticas  
A 3 lotes de 6 animales cada uno previamente seleccionados con valores de glucosa sanguínea  $\geq 200$  mg/dL fueron sometidos a tratamientos, se les administró extracto etanólico de *Annona cherimola* a una dosis de 900 mg/kg en combinación de metformina 900 mg/kg, acarbosa 100 mg/kg y glibenclamida 100 mg/kg. Se midieron la concentración de glucosa a tiempo 0, antes de la administración del tratamiento a las 2 y 4 h después de haberse administrado el tratamiento.

#### 3.5.4 Modelo crónico en ratones hembra diabéticas

A 2 lotes de 6 animales cada uno con valores de glucosa sanguínea  $\geq 200$  mg/dL fueron tratadas por 28 días, un lote fue el control al que solo se le administró agua y el otro lote fue tratado con extracto etanólico de *Annona cherimola* a una dosis de 900 mg/kg, se midieron la concentración de glucemia cada 7 días por 4 semanas, antes de la administración del extracto, esta prueba sirvió para determinar el efecto a largo plazo y adicionalmente observar si se producía algún tipo de toxicidad.

#### 3.6 Análisis estadístico

Los resultados de las pruebas se analizaron por ANOVA en todas las pruebas realizadas y están expresados como el promedio de 6 datos  $\pm$  DE, el nivel de significancia fue evaluado por la prueba de Bonferroni, con valores de  $p < 0.05$ .

### 3.7 Diagramas de Flujo

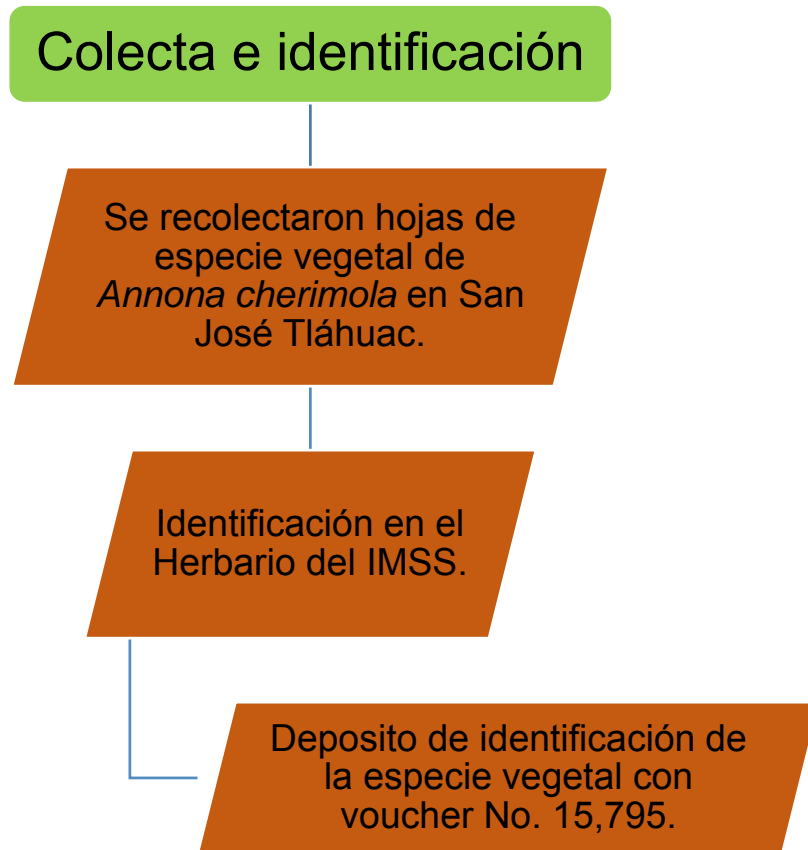


Diagrama 1. Colecta e identificación.

## Preparación del extracto etanólico de la hoja de *Annona cherimola* Mill.

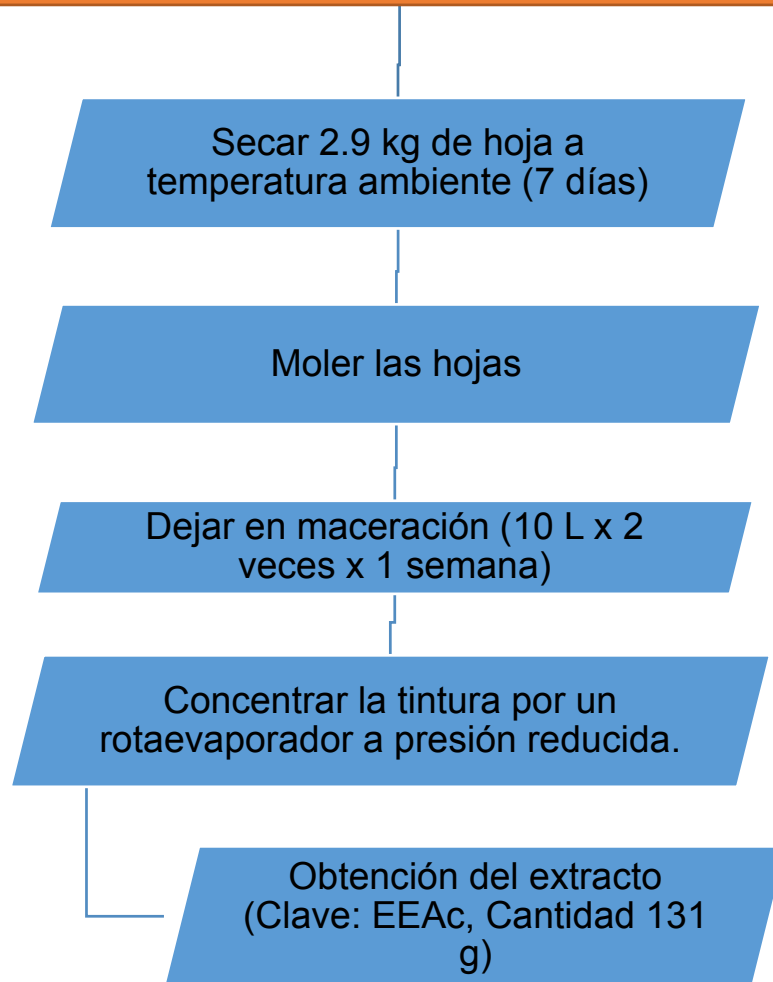


Diagrama 2. Preparación del extracto etanólico de la hoja de *Annona cherimola* Mill.

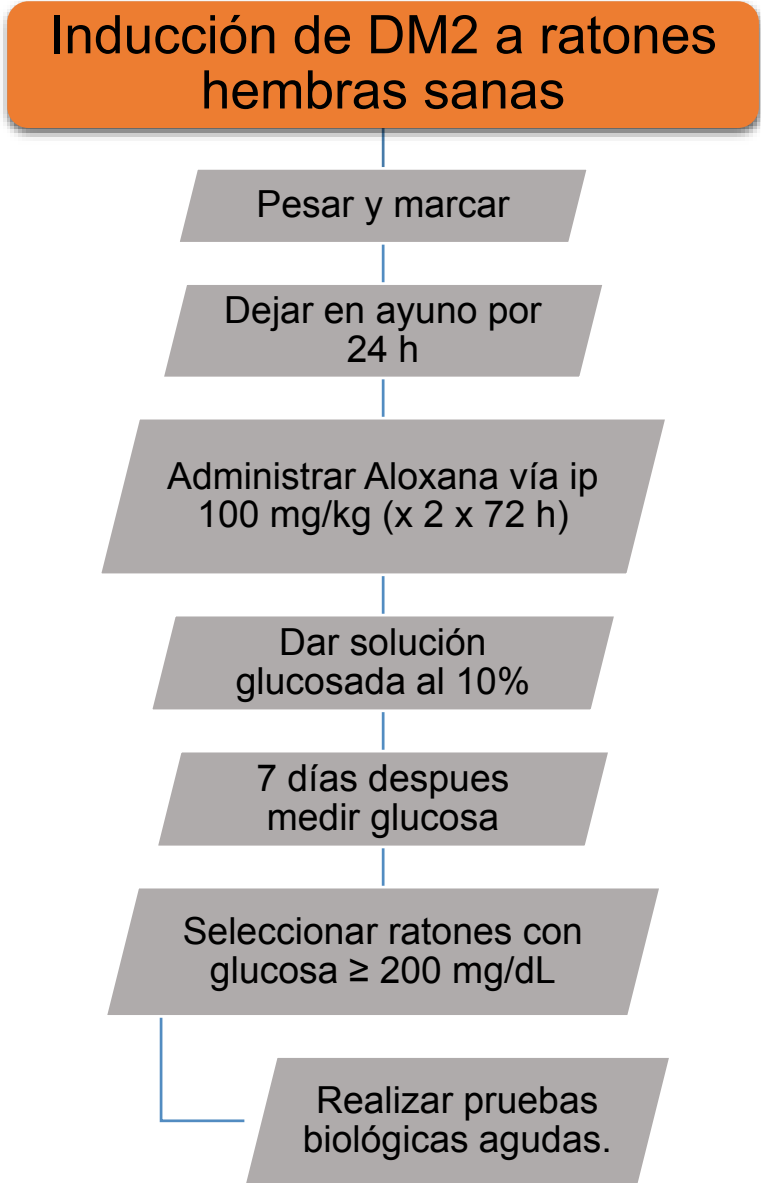


Diagrama 3. Inducción de DM2 a ratones hembra sanas.

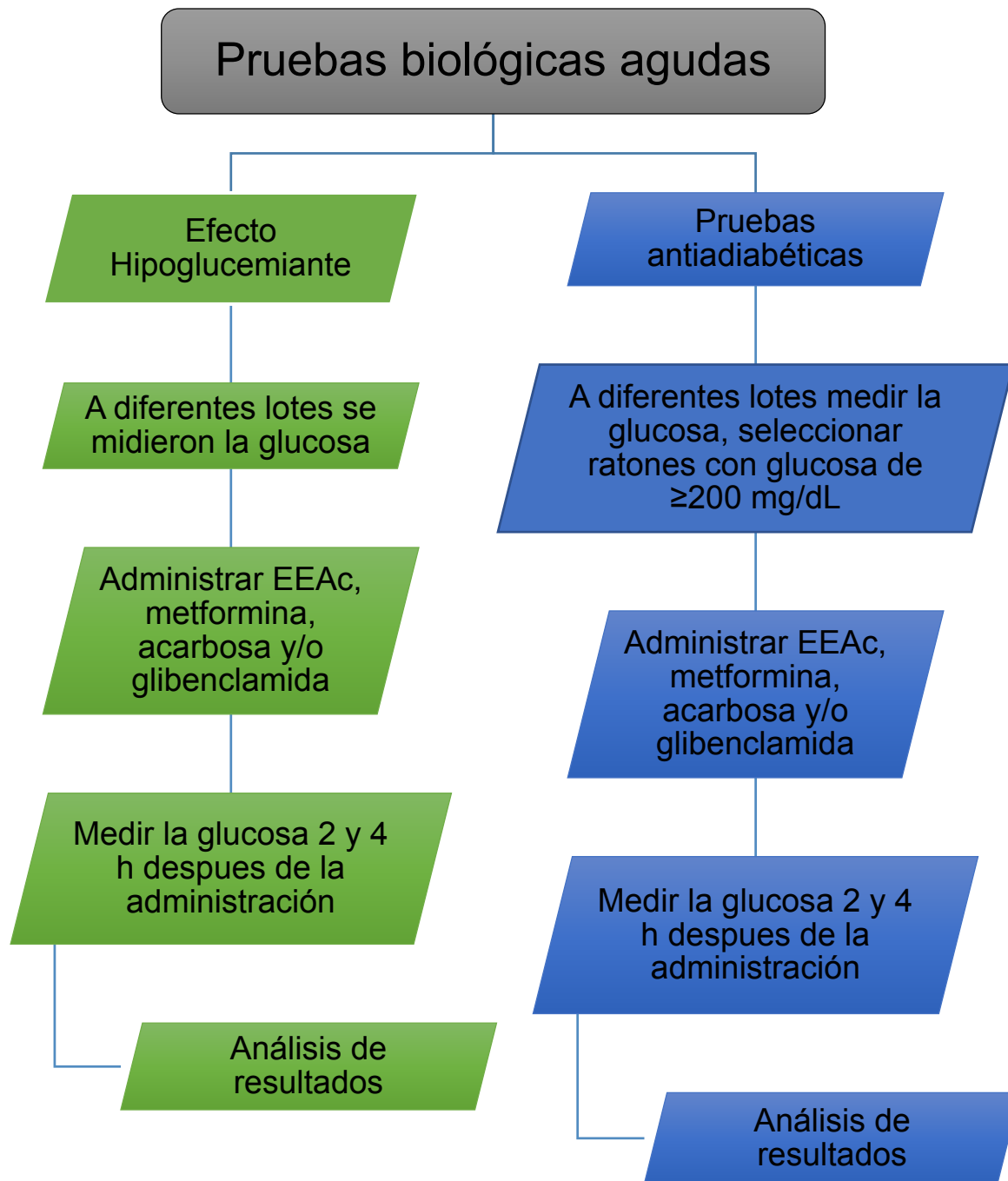


Diagrama 4. Pruebas biológicas agudas.



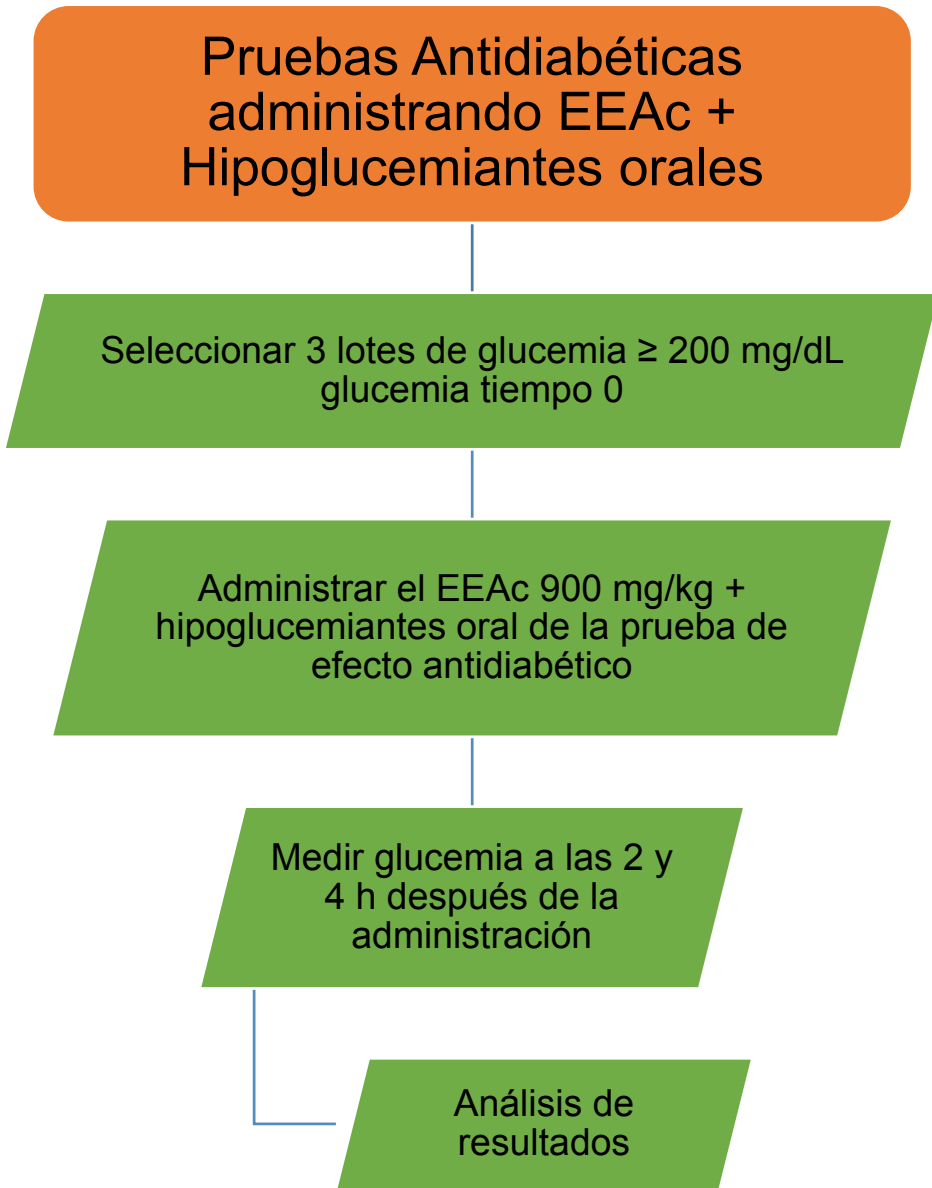


Diagrama 5. Prueba antidiabética administrando EEAc + Hipoglucemiantes orales.

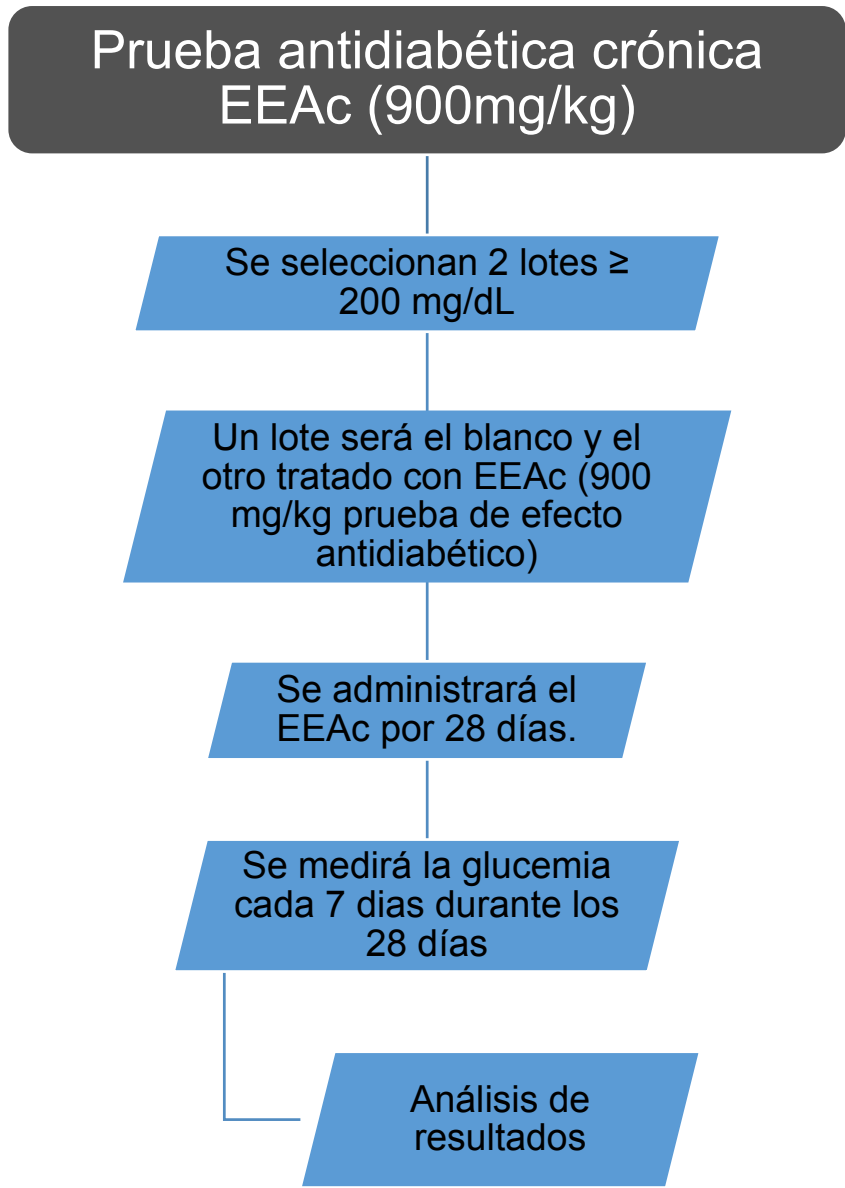


Diagrama 6. Prueba antidiabética crónica del EEAc (900 mg/kg).

## 4. RESULTADOS

Identificación de las hojas de *Annona cherimola* Mill.

La identificación se llevó a cabo en el Herbario de Plantas Medicinales del IMSS (Herbario IMSSM), por la M. en C. Abigail Aguilar Contreras, se depositó el ejemplar de herbario con número de registro 15,795.

Se obtuvieron 131 g del extracto etanólico de *Annona cherimola* Mill. con una coloración verde oscuro y de consistencia pastosa. Se identificó al extracto con la clave: EEAc.

En la tabla 1 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h de administrar a diferentes dosis crecientes (100-1200 mg/kg) extracto etanólico de *Annona cherimola* (EEAc) en animales sanos.

Tabla 1 Comparación de glucemias de animales sanos tratados con EEAc.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control	176±22	165±9	176±9
100 mg/kg	185±22	160±14	151±19*
200 mg/kg	172±15	152±10*	148±13*π
300 mg/kg	176±11	125±9*	141±13*π
400 mg/kg	194±36	164±17	156±19*
600 mg/kg	189±18	146±18*	145±18*π
900 mg/kg	181±19	155±9*	132±8*π⊗
1200 mg/kg	186±16	173±15	153±14*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía;

\*p<0.05 diferencia significativa al tiempo 0 h de su dosis

πp<0.05 diferencia significativa columna a 4 h

⊗p<0.05 diferencia significativa de misma dosis de 2 h a 4 h

En la tabla 2 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (100-850 mg/kg) de metformina en animales sanos.

Tabla 2. Comparación de glucemias de animales sanos tratados con metformina.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control	176±22	165±9	176±9
100 mg/kg	162±37	159±32	162±12
200 mg/kg	181±22	137±16*	130±15*πφ
400 mg/kg	167±32	126±23*	142±29*
850 mg/kg	192±39	75±17*	86±18*π

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento y análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al tiempo 0 h de su dosis,

πp<0.05 diferencia significativa columna a 4 h,

φ Sigue habiendo efecto.

En la tabla 3 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (25-100 mg/kg) de acarbosa en animales sanos.

Tabla 3 Comparación de glucemias de animales sanos tratados con acarbosa.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control	176±22	165±9	176±9
25 mg/kg	181±21	145±19*	134±18*π
50 mg/kg	188±20	129±32*	123±30*πφ
100 mg/kg	197±28	145±16*	132±18*π

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía;

\*p<0.05 diferencia significativa al tiempo 0 h de su dosis,

πp<0.05 diferencia significativa columna a 4 h,

φ Sigue habiendo efecto.

En la tabla 4 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (1.25-10 mg/kg) de glibenclamida en animales sanos.

Tabla 4 Comparación de glucemias de animales sanos tratados con glibenclamida.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control	176±22	165±9	176±9
1.25 mg/kg	194±21	130±15***	133±13*π
2.5 mg/kg	197±23	115±3***	115±8*π
5 mg/kg	183±9	149±36	126±12*πφ
10 mg/kg	195±19	109±8***	153±15*π

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al tiempo 0 h de su dosis,

πp<0.05 diferencia significativa columna a 4 h,

φ Sigue habiendo efecto.

En la tabla 5 se muestran los valores de glucemias a las dosis donde se observó el mejor efecto del EEAc y los fármacos antidiabéticos orales.

Tabla 5. Valores de glucemias de las dosis efectivas para los animales sanos tanto para EEAc, metformina, acarbosa y glibenclamida.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
EEAc 900 mg/kg	181±19	155±9	132±8*
Met. 200 mg/kg	181±22	137±16*	130±15*
Aca. 50 mg/kg	188±20	129±32*	123±30*
Glib. 5 mg/kg	183±9	149±36	126±12*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía,

\*p<0.05 diferencia significativa al tiempo 0 h de su dosis.

En la tabla 6 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (100-1200 mg/kg) extracto etanólico de *Annona cherimila* (EEAc) en animales diabéticos.

Tabla 6. Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEA.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
100 mg/kg	201±3	182±35	171±12
300 mg/kg	210±3	170±24	182±25
600 mg/kg	217±11	174±33	168±25
900 mg/kg	247±18	159±25	131±25*φ
1200 mg/kg	205±17	136±18*	125±16*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al control sano,

φ Sigue habiendo efecto.

En la tabla 7 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (100-1200 mg/kg) de metformina en animales diabéticos.

Tabla 7. Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con metformina.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
100 mg/kg	223±23	211±36	196±37
300 mg/kg	225±56	156±14	154±17
600 mg/kg	244±59	142±59	154±60
900 mg/kg	240±68	92±59*	91±45*φ
1200 mg/kg	230±56.64	68±41*	83±23*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al control sano, de 2 h y 4 h,

φ Sigue habiendo efecto.

En la tabla 8 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (100-1200 mg/kg) de acarbosa en animales diabéticos.

Tabla 8. Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con acarbosa.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
100 mg/kg	221±32	179±30	169±25*φ
300 mg/kg	219±31	187±32	158±33*
600 mg/kg	219±16	175±27	199±30
900 mg/kg	221±23	178±31	191±54
1200 mg/kg	222±26	172±31	191±47

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al control sano a 4 h,

φ no hay diferencia entre misma dosis se elige la menor.

En la tabla 9 se muestran los valores de glucemias obtenidos a las 2 y 4h al administrar a diferentes dosis crecientes (100-1200 mg/kg) de glibenclamida en animales diabéticos.

Tabla 9. Comparación de glucemia de animales con DM2 tratados con glibenclamida.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
100 mg/kg	224±20	134±19	152±23*φ
300 mg/kg	228±32	193±23	155±24*
600 mg/kg	220±37	160±52	156±38*
900 mg/kg	220±20	153±15	147±19*
1200 mg/kg	220±26	161±34	148±21*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al control sano a 4 h,

φ no hay diferencia entre misma dosis se elige la menor.

En la tabla 10 se muestran los valores de glucemias a las dosis donde se observó el mejor efecto del EEAc y los fármacos antidiabéticos orales.

Tabla 10. Valores de glucemias de las dosis efectivas para los animales con DM2 el EEAc, metformina, acarbosa y glibenclamida.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
EEAc 900 mg/kg	247±18	159±25*	131±25*
Met. 900 mg/kg	240±68	92±59*	91±45*π
Aca. 100 mg/kg	221±32	179±30	169±25
Glib. 100 mg/kg	224±20	134±19*	152±23*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía

\*p<0.05 diferencia significativa al tiempo 0 h de su dosis,

πp<0.05 diferencia significativa a los otros fármacos.

La tabla 11, 12 y 13 se muestran los valores de glucemias al administrar las combinaciones del EEAc + fármacos antidiabéticos orales.

Tabla 11. Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAc, metformina, EEAc + metformina y controles.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
EEAc 900 mg/kg	247±18	159±25	131±25*
Met. 900 mg/kg	240±68	92±59	91±5*
EEAc + Met.	235±4	113±19	90±9*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía,  
\*p<0.05 diferencia significativa al control sano a 4 h.

Tabla 12. Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAc, acarbosa, EEAc + acarbosa y controles.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
EEAc 900 mg/kg	247±18	159±25	131±25*
Acar. 100 mg/kg	221±32	179±30	169±25
EEAc + Acar.	227±31	164±40	141±22* $\pi$

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía,  
\*p<0.05 diferencia significativa al control sano a 4 h,  
 $\pi$ p<0.05 diferencia al tratamiento con el fármaco oral.

Tabla 13. Comparación de glucemias de animales con DM2 tratados con EEAc, glibenclamida, EEAc + glibenclamida y controles.

Tratamiento	0 h	2 h	4 h
Control DM2	222±7	219±23	220±27
Control sanos	176±22	165±9	176±9
EEAc 900 mg/kg	247±18	159±25	131±25*
Glib. 100 mg/kg	224±20	134±19	152±23
EEAc + Glib.	223±42	193±60	170±37 $\pi$

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía  
\*p<0.05 diferencia significativa al control sano a 4 h,  
 $\pi$ p<0.05 diferencia al tratamiento con el fármaco oral.

En tabla 14 se muestran los valores de glucemias obtenidas en la prueba crónica al administrar el EEAc.

Tabla 14. Glucemias de animales con DM2 tratados con EEAc (900 mg/kg) y sin tratamiento durante 4 semanas.

Semanas	Control	EEAc
Inicio	250±34	243±44
1	261±119	228±44
2	276±110	187±23*
3	253±129	183±22*
4	268±119	158±27*

Valores promedio ± DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía, \*p<0.05 diferencia significativa al inicio.

## 5. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Este estudio se divide en 4 etapas:

1. Evaluación del efecto del extracto etanólico de *Annona herimola* (EEAc) y tres fármacos antidiabéticos orales en animales sanos;
2. Evaluación del EEAc y tres fármacos antidiabéticos orales en animales con DM2.
3. Evaluación en animales con DM2 y con el EEAc en combinación de tres fármacos antidiabéticos orales, y finalmente
4. Evaluación crónica del EEAc en ratones con DM2.

Obtención del extracto etanólico de *Annona cherimola* Mill.

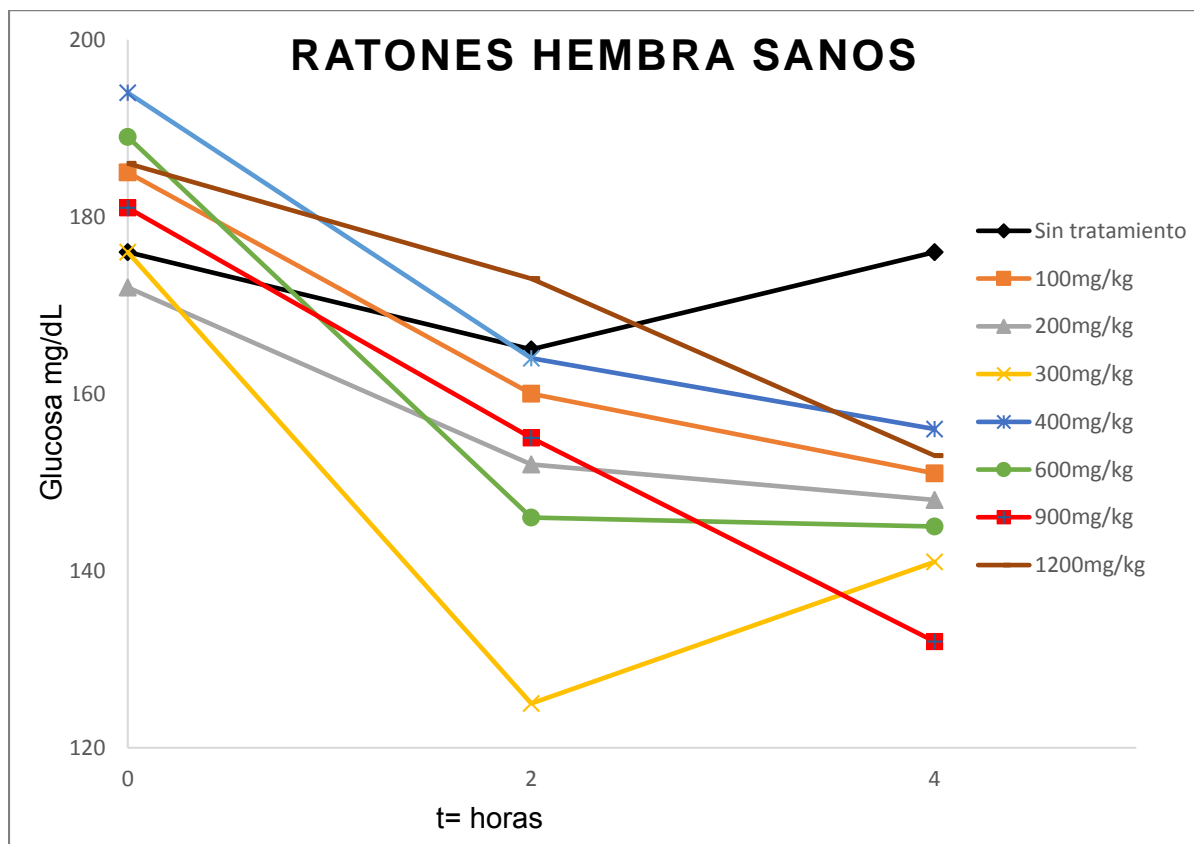
Las hojas fragmentadas (2.9 kg) fueron extraídas exhaustivamente por maceración con etanol y del cual se obtuvieron 131 g del EEAc equivalente a 4.5% de rendimiento en peso seco. Este rendimiento es consistente con el obtenido en otras Anonáceas como la *Annona macrophyllata* y de *Annona cherimola* (Brindis et al., 2013; López et al., 2006).

En la etapa 1 los productos fueron evaluados a diferentes dosis crecientes en ratones sanos con el propósito de encontrar la dosis en la que se induce hipoglucemia ya que se ha descrito que los extractos con estas características pueden ser agentes antidiabéticos potenciales (Brindis et al., 2013).



Es este caso del experimento se considera hipoglucemia a todo extracto o compuesto que disminuye los valores de glucemia por debajo de los valores normales (165-176 mg/dL) en animales sanos (Medicina, 1988).

En caso del EEAc se inició con dosis de 300 mg/kg porque se ha demostrado que a esa dosis muchos extractos de origen vegetal muestran efecto biológico y por otro lado también se sabe que a 300 mg es equivalente a una taza de té que toma la población en la medicina tradicional (Velázquez et al., 2006; Calzada et al., 2010). Como se observa en la gráfica 1 y tabla 1, a las 4 h posterior a su administración del EEAc todas las dosis probadas causaron efecto hipoglucémico (Brindis et al., 2013); siendo a 900 mg/kg la dosis donde se observó el mayor efecto. A las otras dosis evaluadas el efecto hipoglucémico disminuye o se mantiene estable con el tiempo. El efecto hipoglucemiante mostrado por EEAc es consistente con el descrito para otras Anonáceas (Rajesh et al., 2005; Thangavel y Lonchin, 2014; Adeyemi et al., 2009; Brindis et al., 2013)

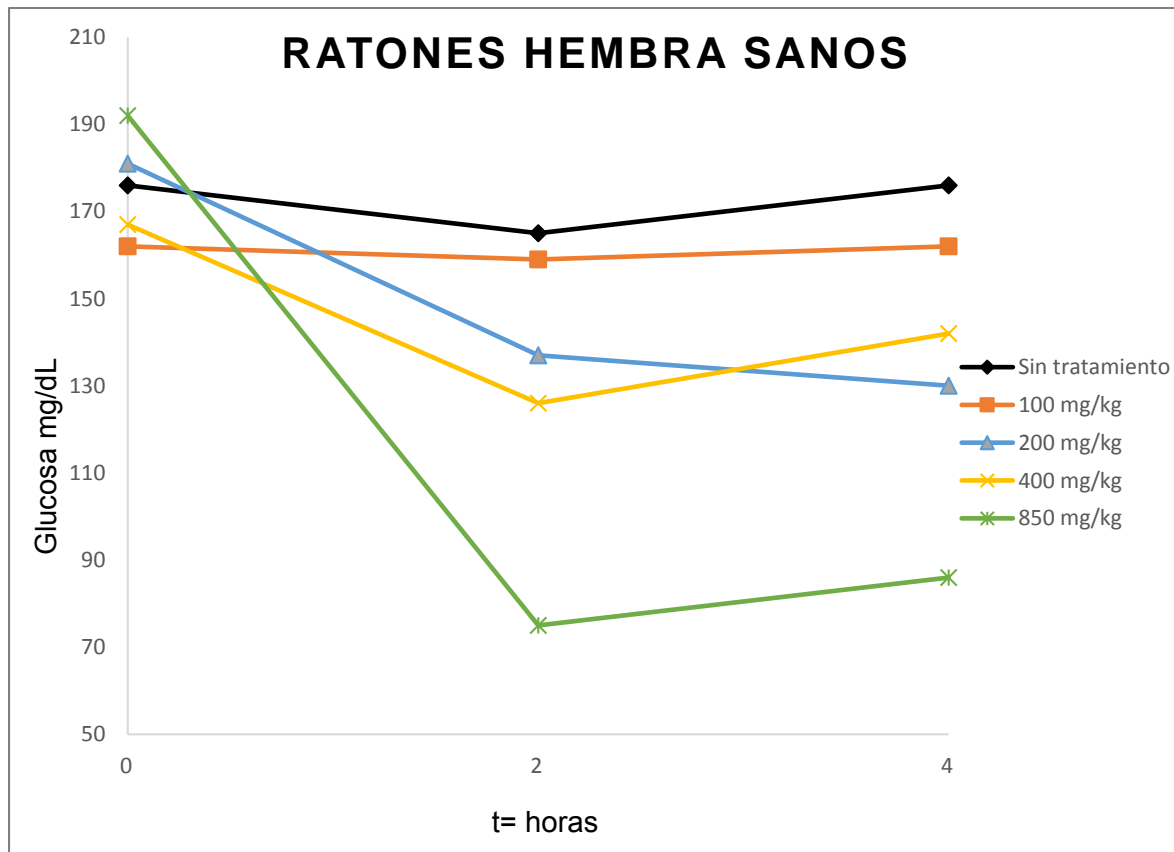


Gráfica 1. Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con EEAc a diferentes dosis.

En la Gráfica 1 se muestra el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Annona cherimola* (EEAc) a dosis crecientes de (100-1200 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones sanos.

Lo anterior explica el uso de la planta *Annona cherimola* en la medicina tradicional mexicana en el control Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Brindis et al.,2013).

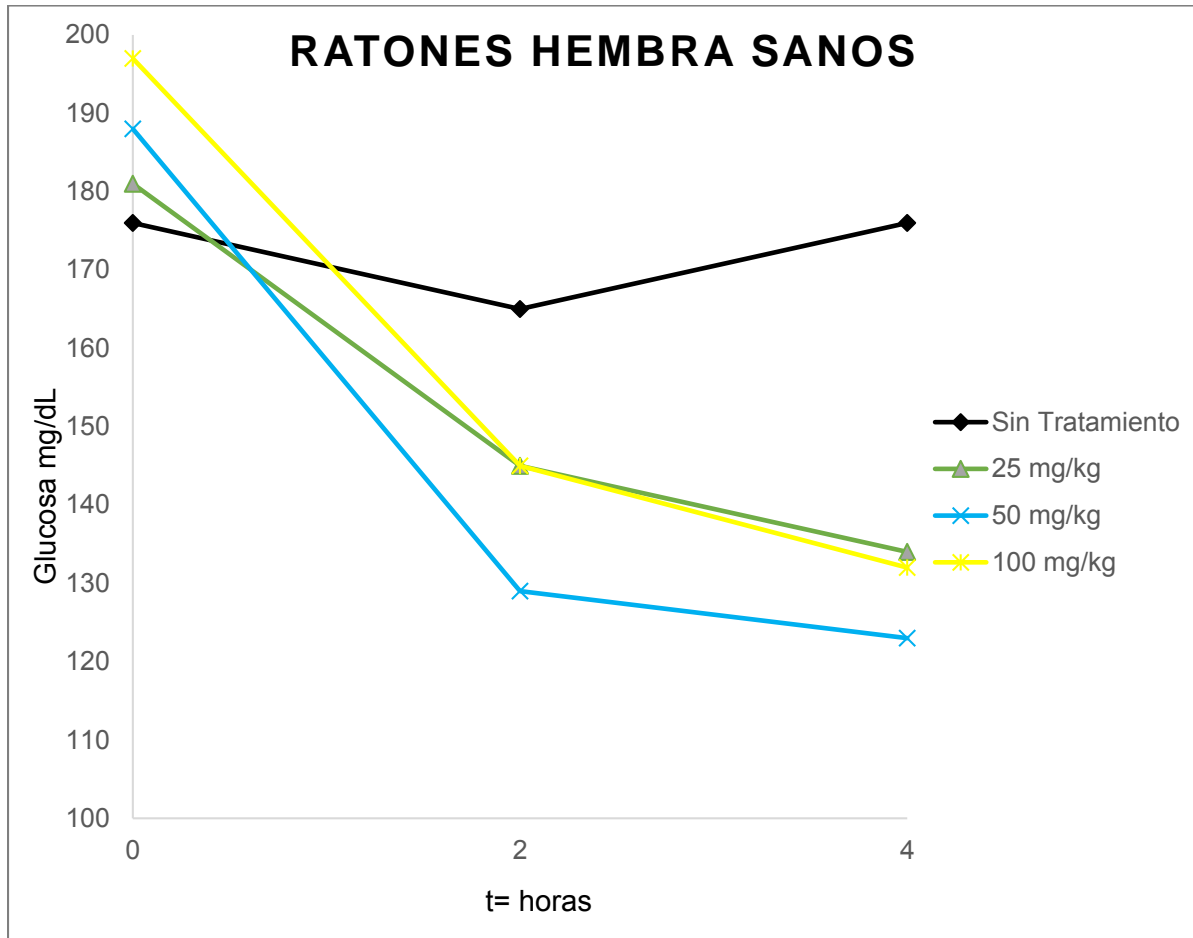
En el caso del antidiabético metformina como se observa en la tabla 2 y gráfica 2 en las dosis de 200, 400 y 850 mg/kg después de las 4 h de su administración hay efecto hipoglucémico, ya que la glucemia inducida está por debajo de los valores normales en animales sanos (Medicina, 1988). A la dosis de 100 mg/kg no tiene efecto hipoglucemiante ya que sus valores están cerca a los del control; a dosis de 200 mg/kg el efecto se incrementa con el tiempo. A las otras dosis restantes hay disminución del efecto o se mantiene constante. Estos resultados confirman el efecto hipoglucémico descrito en la literatura para metformina (Green y Feinglos, 2008).



Gráfica 2. Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con metformina a diferentes dosis.

En la Gráfica 2 se muestra el efecto hipoglucemiante de metformina a dosis crecientes de (100-850 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones sanos.

En el caso del antidiabético acarbosa como se observa en la tabla 3 y gráfica 3, a las dosis probadas a las 4 h de su administración induce hipoglucemia (Tadera et al., 2005; Yan et al.,2009) que es estadísticamente diferente al control sano. Siendo a dosis de 50 mg/kg que se manifiesta el máximo efecto, aumentando con el tiempo. La dosis obtenida resulto ser idéntica a la descrita cuando se administra en seres humanos con DM2 (PLM, 2014).

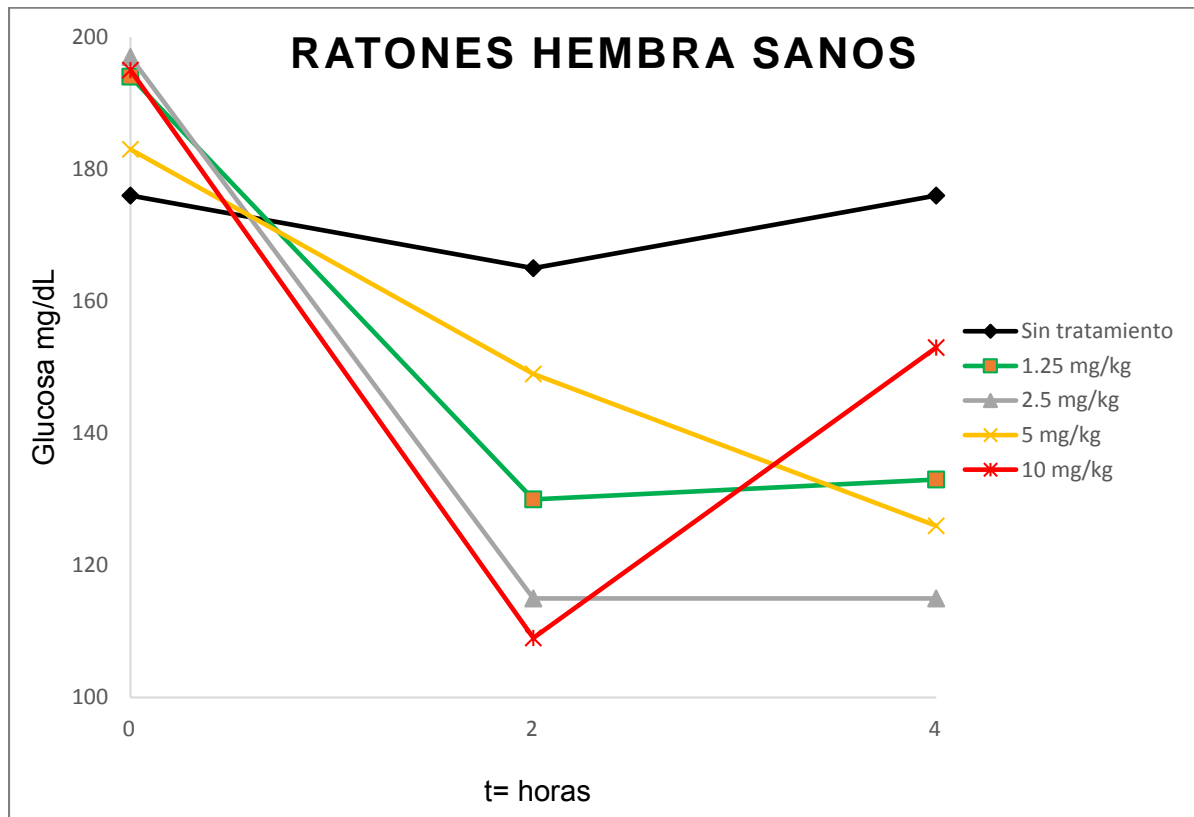


Gráfica 3. Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con acarbosa a diferentes dosis.

En la Gráfica 3 se muestra el efecto hipoglucemiante de acarbosa a dosis crecientes de (25-100 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones sanos.

En el caso del antidiabético glibenclamida como se observa en la tabla 4 y gráfica 4 a las dosis probadas a las 4 h de su administración induce efecto hipoglucémico (Riddle, 2000). A dosis de 5 mg/kg se observa que el efecto aumenta con respecto al tiempo, mientras que a dosis de 1.25 y 2.5 mg/kg mantiene su efecto y a dosis de 10 mg/kg disminuye su

efecto. Al igual que el fármaco acarbosa la dosis de 5 mg/kg resultó ser idéntica a la descrita para seres humanos con DM2 (PLM, 2014).

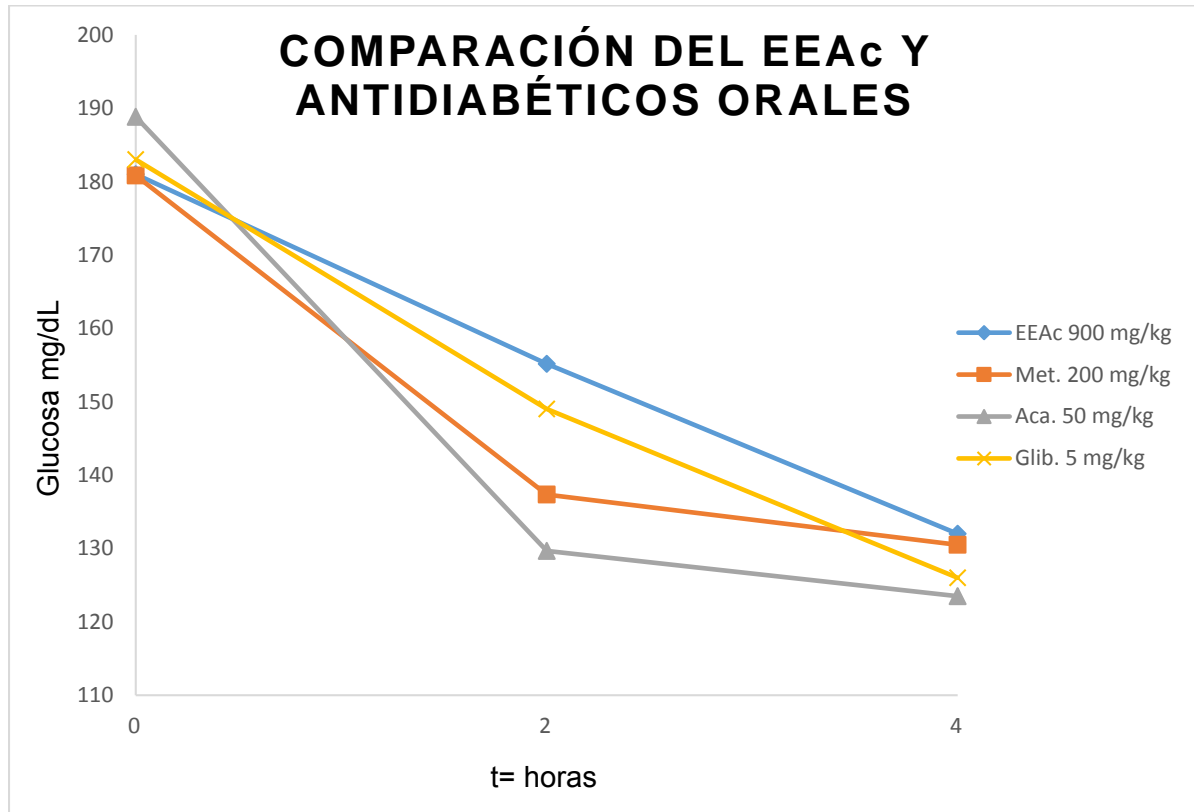


Gráfica 4. Glucemias de animales sanos sin tratamiento y con glibenclamida a diferentes dosis.

En la Gráfica 4 se muestra el efecto hipoglucemiante de glibenclamida ha dosis crecientes de (1.25-10 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones sanos.

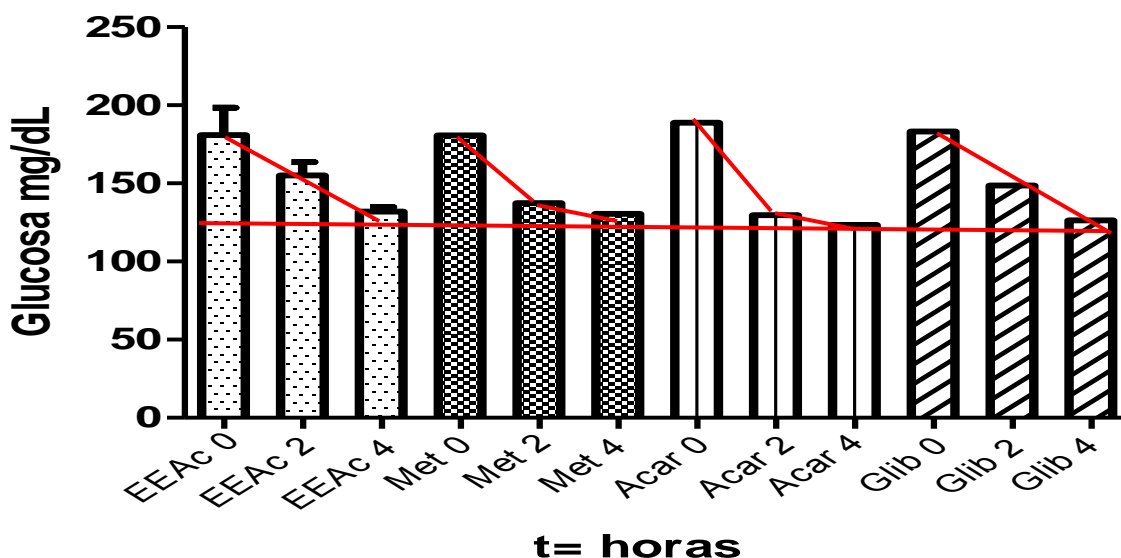
En la tabla 5, gráficas 5 y 6 se observa la comparación de las dosis efectivas del EEAc contra los fármacos antidiabéticos orales; donde se observa que a 900 mg/kg del EEAc es equivalente el efecto hipoglucemiante al obtenido a los fármacos metformina (200 mg/kg), acarbosa (50 mg/kg) y glibenclamida (5 mg/kg) ya que no hay diferencia estadísticamente significativa a las 2 y 4 h después de la administración; la acarbosa > metformina > glibenclamida > EEAc en cuanto a eficacia ya que a esas dosis tienen su efecto máximo. Estos resultados permiten establecer la naturaleza hipoglucemiante del EEAc (Rajesh et al.; 2008; Brindis et al., 2013).

También se puede especular que el EEAc pudiera tener cualquier de los tres mecanismo de acción descrito para los tres antidiabéticos orales (metformina, acarbosa y glibenclamida) que pueden ser: estimulación de metabolismo de la glucosa o inhibición de  $\alpha$ -glucosidasas intestinales y/o estimulando la secreción de insulina por células  $\beta$  del páncreas (Blengio et al., 2006; Bruton et al., 2008).



Gráfica 5. Glucemias de animales sanos tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida.

En la Gráfica 5 se muestra el efecto hipoglucemiante en las dosis donde se observó el mejor efecto del EEAc y los fármacos antidiabéticos orales.



Gráfica 6. Glucemias de animales sanos tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida. Promedio, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía.

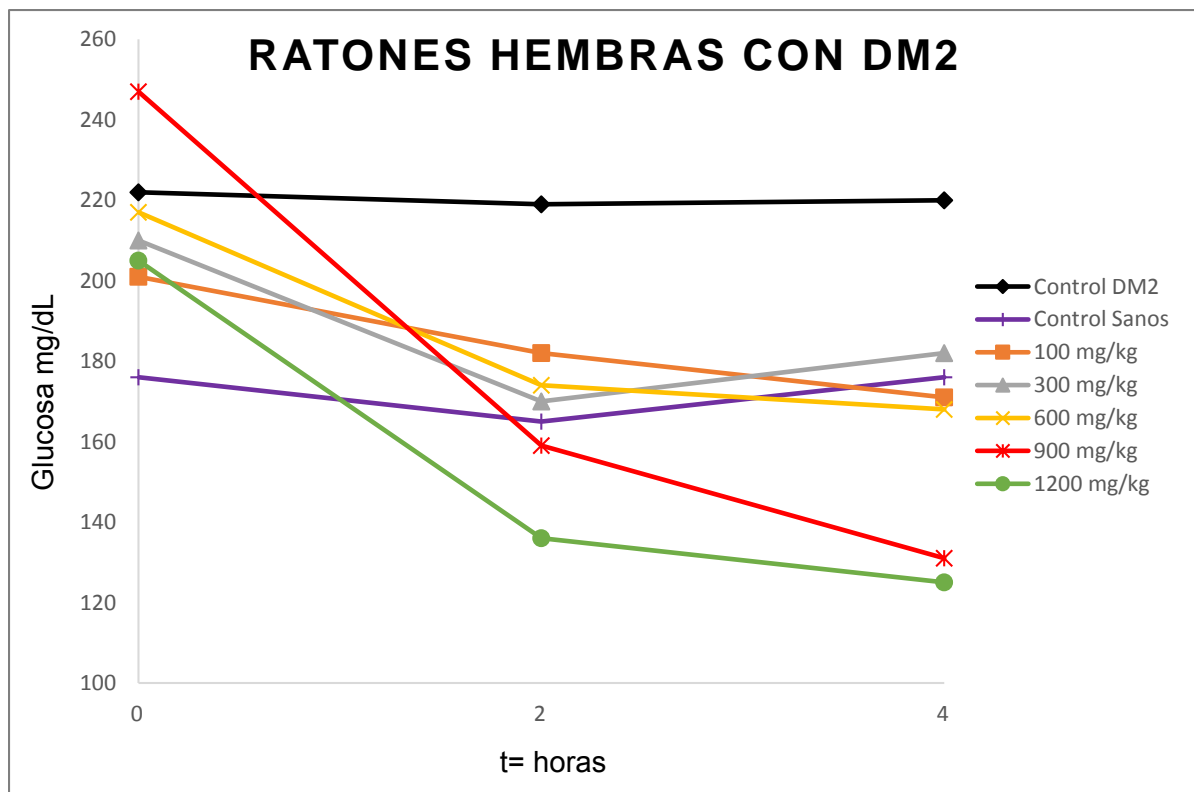
En la Gráfica 6 se muestra el efecto hipoglucemiante en las dosis donde se observó el mejor efecto del EEAc y los fármacos antidiabéticos orales.

Los hipoglucemiantes orales tienen efectos secundarios y adversos no deseados, por lo que es necesario desarrollar nuevos tratamientos para la diabetes. En la Medicina tradicional *Annona cherimola* es recomendada para el tratamiento de la DM2 (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005). Los resultados obtenidos hasta este punto permite explicar el uso en México como agente antidiabético (Rajesh et al.; 2008; Brindis et al., 2013). Tomando en consideración que en dosis de 900 mg/kg el EEAc tiene el efecto hipoglucemiante comparable a metformina, acarbosa y glibenclamida, se seleccionó esta concentración para ser usada en la etapa 2.

Para la segunda etapa del estudio el EEAc y antidiabéticos orales en animales con DM2 al igual que el caso anterior fueron evaluadas a diferentes dosis con el propósito de observar a cual dosis se induce los efectos antihyperglucemiante e hipoglucemiante. Se considera producto antihyperglucemiante (Adeyemi et al., 2009) a todo aquel que

disminuye los niveles de glucemia en animales diabéticos ( $\geq 200$  mg/dL de glucosa) a valores de glucemia de animales sanos (165-176 mg/dL de glucosa).

En el caso del EEAc como se observa en la tabla 6 y gráfica 7 en las dosis de 900 y 1200 mg/kg a las 4 h de su administración hay efecto hipoglucémico comparando con los controles sanos (Medicina, 1988) y en las dosis de 100, 300 y 600 mg/kg tienen efecto antihiper glucemiante comparándolo con los controles DM2 (Adeyemi et al., 2009). Cabe mencionar que la dosis de 900 mg/kg en animales diabéticos también fue la mejor dosis encontrada en animales sanos (Rajesh et al., 2008; Brindis et al., 2013), por lo que ésta dosis fue seleccionada para realizar el experimento de combinación.

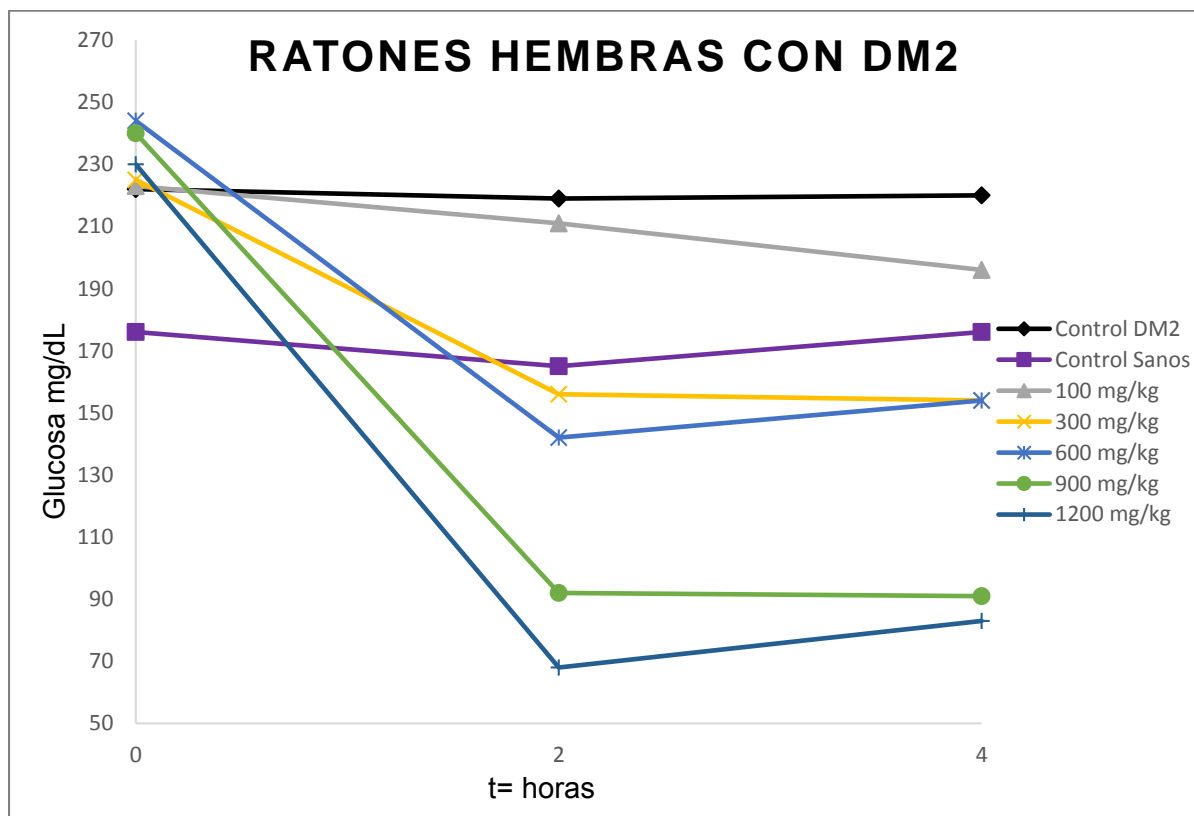


Gráfica 7. Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sanos y con EEAc a diferentes dosis.

En la Gráfica 7 se muestra el efecto antihiper glucemiante e hipoglucemiante del EEAc a dosis crecientes de (100-1200 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones con DM2.

En el caso de metformina como se observa en la tabla 7 y gráfica 8; en dosis de 100 mg/kg hay efecto antihiper glucemiante debido a que hay diferencia estadísticamente

significativa comparable con los animales control con DM2 (Adeyemi et al., 2009). Al incrementar la dosis (300, 600, 900 y 1200 mg/kg) de metformina se tiene efecto hipoglucémico (Wang et al., 2015), a las 4 h de su administración comparable estadísticamente al control de animales sanos (Medicina, 1988); cabe mencionar que en dosis de 900 mg/kg se presenta el efecto máximo evaluado. A las otras dosis se disminuye el efecto o se mantiene constante (Flores, 1997), por lo tanto ésta dosis fue seleccionada para realizar el experimento de combinación.



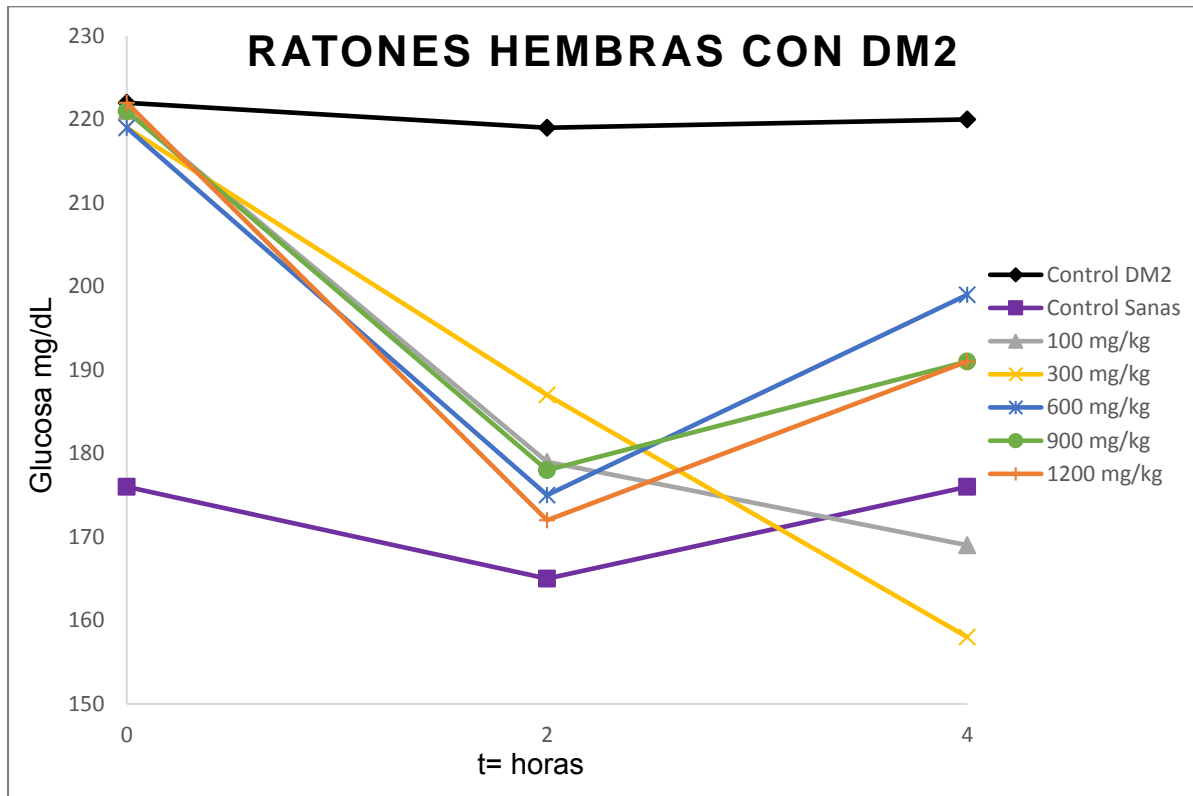
Gráfica 8. Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sanos y con metformina a diferentes dosis.

En la Gráfica 8 se muestra el efecto antihiper glucemiente e hipoglucemiente de metformina a dosis crecientes de (100-1200 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones con DM2.

En el caso de acarbosa como se observa en la tabla 8 y gráfica 9 en dosis de 600, 900 y 1200 mg/kg a las 4 h posterior a su administración hay efecto antihiper glucémico comparándolo con los animales controles con DM2 (Adeyemi et al., 2009). Sin embargo a las 4 h se tiene una pérdida del efecto y esto puede ser explicado porque en la literatura se menciona que en este tiempo la acarbosa tiene absorción de 0.7-2% (Flores, 1997;



Singh et al., 2014). En el caso de las dosis de 100 y 300 mg/kg mostraron efecto comparable estadísticamente al control de animales sanos, por lo que se consideran como hipoglucemiantes (Medicina. 1988; Tadera et al., 2005); tomando en cuenta que entre las dosis de 100 y 300 mg/kg no hay diferencia estadísticamente significativa se seleccionó la dosis de 100 mg/kg para el estudio de combinación.

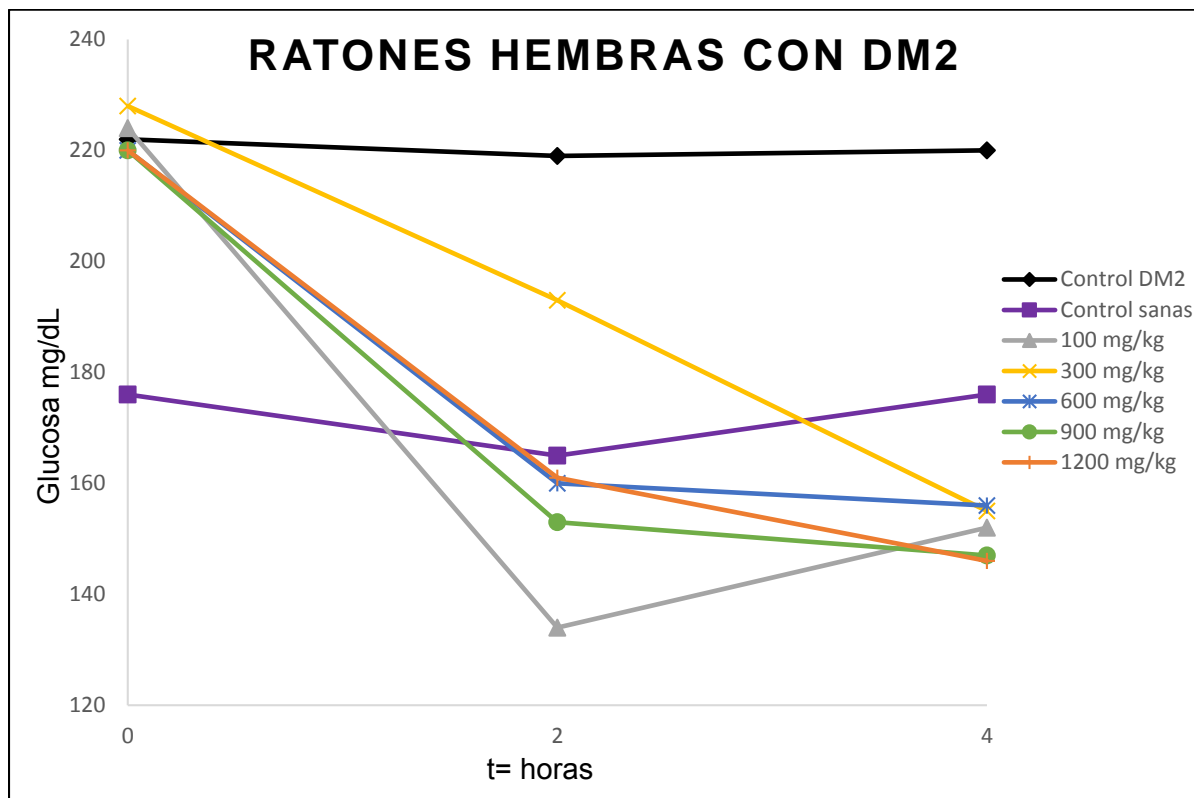


Grafica 9. Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sanos y con acarbosa a diferentes dosis.

En la Gráfica 9 se muestra el efecto antihiperoglucemiante e hipoglucemiante de acarbosa a dosis crecientes de (100-1200 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones con DM2.

En el caso de glibenclamida como se observa en la tabla 9 y gráfica 10 en las dosis probadas a las 4 h posterior de su administración hay efecto hipoglucemiante debido a que los valores de glucemia obtenidos son menores a los animales sanos (Medicina, 1988; Riddle, 2000). Tomando en consideración que a las 4 h todas las dosis evaluadas inducen un efecto hipoglucemiante similar sin diferencia estadísticamente significativa se seleccionó la dosis menor que fue 100 mg/kg para el estudio de combinación. Los

resultados de la actividad hipoglucemiante obtenidos de glibenclamida son consistentes con lo descrito en la literatura para este fármaco (Riddle, 2000).

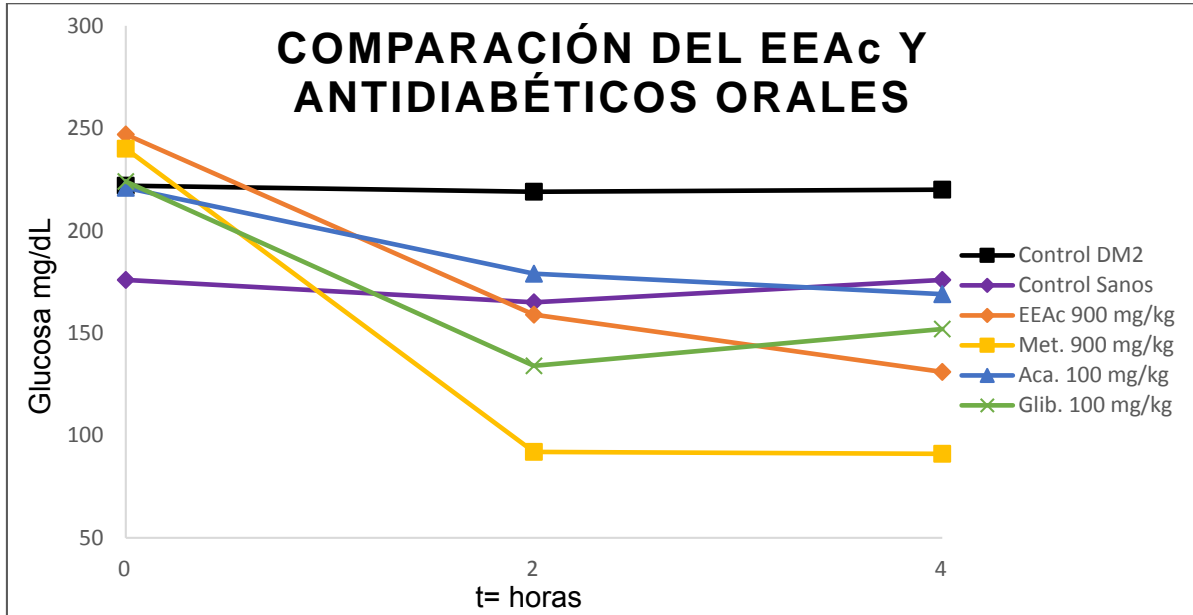


Gráfica 10. Glucemias de animales DM2 sin tratamiento, control sanas y con glibenclamida a diferentes dosis.

En la Gráfica 10 se muestra el efecto antihyperglucemiante e hipoglucemiante de glibenclamida ha dosis crecientes de (100-1200 mg/kg) a 2 y 4 h de su administración a ratones con DM2.

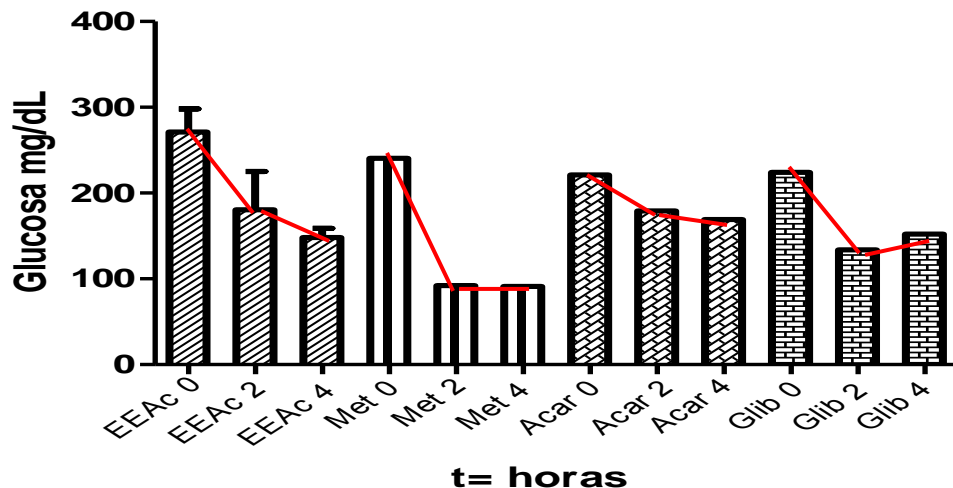
En la tabla 10, gráficas 11 y 12 se observa la comparación de las dosis efectivas del EEAc contra los fármacos antidiabéticos orales; donde se observa que a 900 mg/kg del EEAc es equivalente el efecto hipoglucemiante al obtenido a los fármacos acarbose (100 mg/kg) y glibenclamida (100 mg/kg) ya que no hay diferencia estadísticamente significativa a las 2 y 4 h después de la administración. Estos resultados permiten establecer la naturaleza antihyperglucemiante e hipoglucemiante del EEAc (Rajesh et al., 2008; Adeyemi et al., 2009); y es más eficaz la metformina > glibenclamida > EEAc > acarbose ya que a esas dosis tienen su efecto máximo. Estos resultados también permite proponer que el EEAc podría tener cualquiera de los tres mecanismo de acción descrito para los antidiabéticos orales (metformina, acarbose y glibenclamida) que pueden ser:

estimulación de metabolismo de la glucosa o la inhibición de  $\alpha$ -glucosidasas intestinales o estimulando la secreción de insulina por células  $\beta$  del páncreas (Blengio et al., 2006; Bruton et al., 2008).



Gráfica 11. Glucemias de animales DM2 tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida

En la Gráfica 11 se muestra el efecto antihiper glucemiante e hipoglucemiante en las dosis donde se observó el mejor efecto del EEAc y los fármacos antidiabéticos orales.



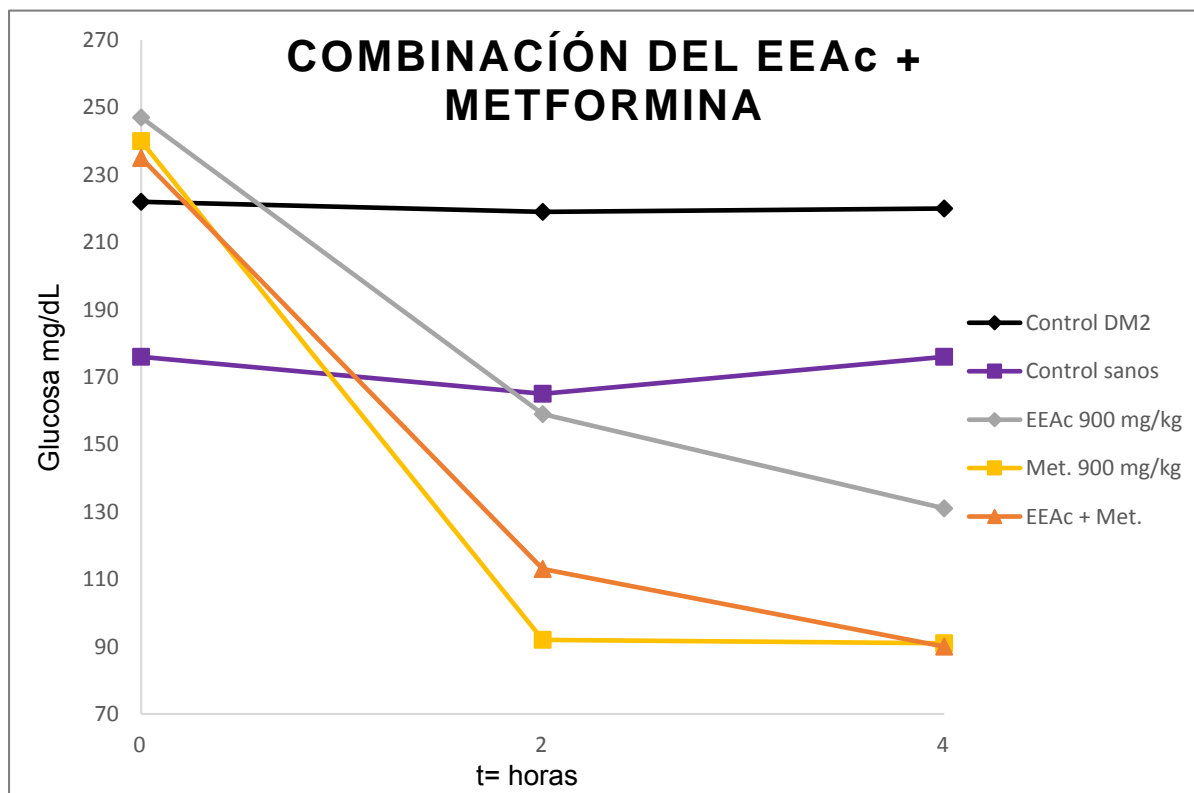
Gráfica 12. Glucemias de animales DM2 tratados con EEAc, metformina, acarbosa y/o glibenclamida.

Valores promedio  $\pm$  DE, n=6 de cada barra de tratamiento análisis por ANOVA de una vía.

En la Gráfica 12 se muestra el efecto antihiper glucemiante e hipoglucemiante en las dosis donde se observó el mejor efecto del EEAc y los fármacos antidiabéticos orales.

En la tercera etapa se tomó en cuenta y consideró que la gente combina el tratamiento de los fármacos con plantas medicinales, por lo que se hizo el estudio del EEAc en combinación con antidiabéticos orales. El EEAc + metformina (900 mg/kg + 900 mg/kg), EEAc + acarbosa (900 mg/kg + 100 mg/kg) y EEAc + glibenclamida (900 mg/kg + 100 mg/kg).

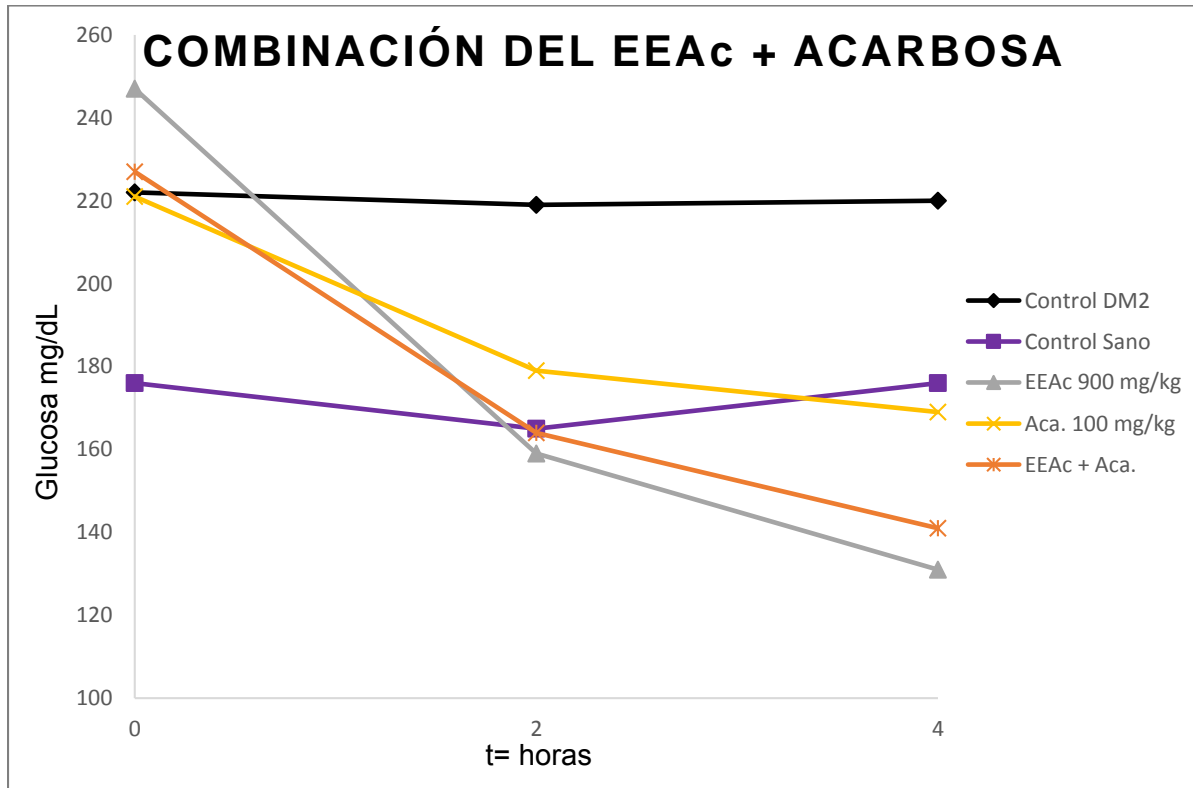
En la tabla 11 y gráfica 13 se observa que al combinar el EEAc + metformina se tiene un efecto hipoglucémico después de las 4 h de administración comparado con el control sano (Medicina, 1988); se observa que el efecto de la combinación no se ve afectada por el EEAc. En contraste, el uso de metformina en combinación con otros antidiabéticos orales como glibenclamida induce en pacientes con DM2 efecto hipoglucemiante (Baxter, 2008).



Gráfica 13. Glucemias de animales controles DM2, controles sanos, tratados con EEAc, metformina y combinación.

En la Gráfica 13 se muestra el efecto hipoglucemiante de los valores de glucemia al administrar EEAc, metformina y combinación.

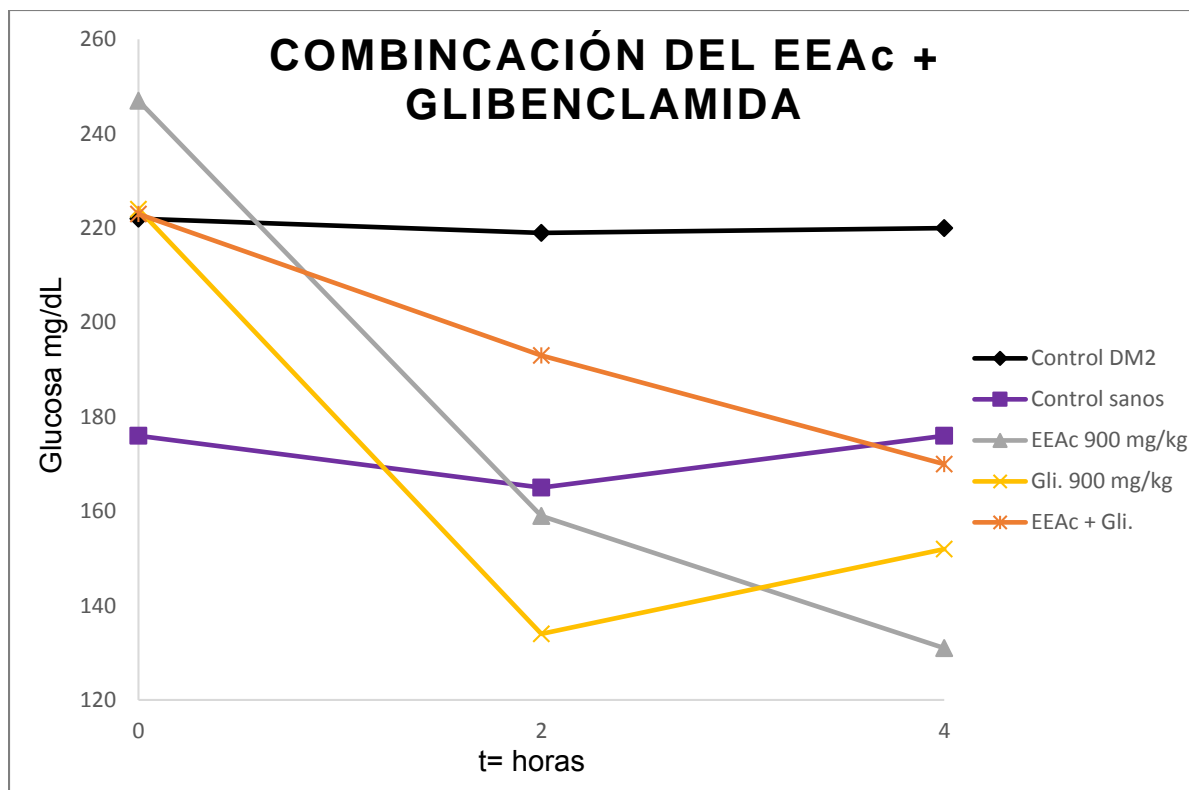
En la tabla 12 y gráfica 14 al combinar EEAc + acarbosa, se observa que a las 4 h después de su administración hay efecto hipoglucémico (Medicina, 1988). Es importante mencionar que la acarbosa administrada por sí sola no induce cuadros de hipoglucemia (Bruton et al., 2008), pero cuando se utiliza en combinación con otros hipoglucemiantes (EEAc) puede potenciar el efecto de éstos (Medscape, 2015); la combinación de EEAc + acarbosa se comporta como si se hubiera administrado el EEAc solo.



Grafica 14. Glucemias de animales controles DM2, controles sanos, tratados con EEAc, acarbosa y combinación

En la Gráfica 14 se muestra el efecto antihyperglucemiante e hipoglucemiante de los valores de glucemia al administrar EEAc, acarbosa y combinación.

En la tabla 13 y gráfica 15 al combinar del EEAc + glibenclamida se observa que a las 4 h de la administración hay efecto antihyperglucemiante; provocando un antagonismo ya que tanto el efecto de glibenclamida y del EEAc se ve disminuido (Medicina, 1988; Adeyemi et al., 2009).

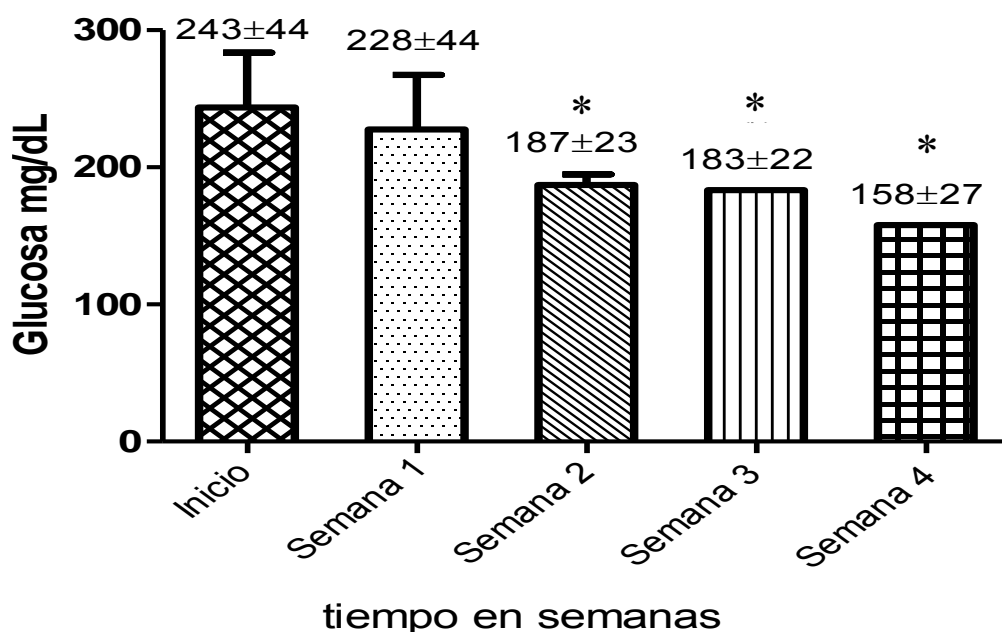


Gráfica 15. Glucemias de animales DM2, control sanos, tratados con EEAc, glibenclamida y combinación. En la Gráfica 15 se muestra el efecto antihiper glucemiante e hipoglucemiante de los valores de glucemia al administrar EEAc, glibenclamida y combinación.

En la cuarta etapa, como en animales sanos y con DM2 el EEAc se obtuvo el mejor efecto a 900 mg/kg se realizó el estudio crónico.

Para observar si el EEAc tenía efecto antihiper glucemiante o hipoglucemiante no sólo a 2 y 4 h sino también a largo plazo de 28 días, se realizó la prueba crónica (Solares, 2015).

En la tabla 14, gráfica 16 y 17 se observa su efecto antidiabético después de la segunda semana que se tiene una diferencia significativa al iniciar la prueba llegando a valores de glucemia normal (Rajesh et al.; 2008; Adeyemi et al., 2009). Estos resultados permiten definir al EEAc como un agente antidiabético potencial para el desarrollo de fitomedicamentos (Brindis et al., 2013).

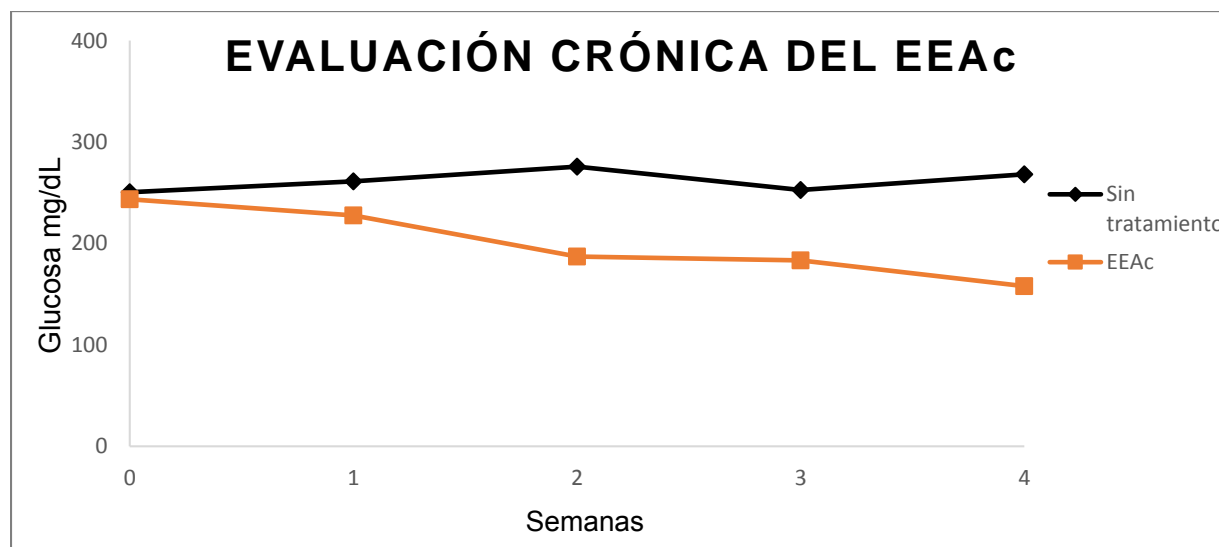


Gráfica 16. Glucemias del tratamiento crónico del EEAc en ratones con DM2.

Promedio ± D.E. una n=6. Análisis por ANOVA de 1 vía \*p<0.05.

En la Gráfica 16 se muestra los valores de glucemia del EEAc en un estudio crónico mostrando efecto antihiper glucemiante.

Comparándola con el control DM2 en la gráfica 17 se observa que los animales siguen con sus glucemias elevadas.



Gráfica 17. Glucemias de comparación del crónico entre animales sin tratamiento con DM2 y tratados con EEAc a 900 mg/kg.

En la Gráfica 17 se muestra los valores de glucemia de ratones sin tratamiento y con el EEAc en un estudio crónico mostrando efecto antihiper glucemiante.

## 6. CONCLUSIONES

En la evaluación en animales sanos el EEAc y/o fármacos antidiabéticos orales se tiene que hay efecto hipoglucémico del EEAc en dosis de 900 mg/kg, metformina en dosis de 200 mg/kg, acarbosa en dosis de 50 mg/kg y glibenclamida en dosis de 5 mg/kg. Y es más eficaz la acarbosa > metformina > glibenclamida > EEAc para animales sanos.

La evaluación en animales con DM2 el EEAc en dosis de 900 mg/kg tiene efecto hipoglucémico, metformina en dosis de 900 mg/kg tiene efecto hipoglucemiante, la acarbosa en dosis de 100 mg/kg tiene efecto antihiper glucemiante y la glibenclamida en dosis de 100 mg/kg tiene efecto hipoglucemiante. Y es más eficaz la metformina > glibenclamida > EEAc > acarbosa para animales con DM2.

En la combinación del EEAc con los hipoglucemiantes orales se determinó que el EEAc no altera la actividad de la metformina; con la glibenclamida hace que se tenga un efecto antagónico teniendo esta combinación un resultado antihiper glucemiante y con la acarbosa se comporta como si se administrara el EEAc por sí solo.

En la evaluación crónica del EEAc en dosis de 900 mg/kg, se tiene efecto antidiabético desde la segunda semana, sugiriendo que no se tiene efectos tóxicos.

Los resultados obtenidos para el EEAc explican su uso en la medicina tradicional mexicana como agente antidiabético.



## 7. PROSPECTIVAS

Realizar una separación del extracto etanólico de *Annona cherimola* Mill. para conocer cual fracción es la causante del efecto antidiabético.

Separación de los productos por medio de cromatografía y evaluarlos.

Identificación de los productos fraccionados de la *Annona cherimola* Mill. por medio de métodos espectrométricos y espectroscópicos.

Realizar un estudio crónico con ratones sanos y con DM2, tratados con las fracciones y productos puros de la hojas de *Annona cherimola* Mill.

Realizar la determinación del efecto antidiabético de la *Annona cherimola* Mill. en ratones macho.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Adeyemi, D., Komolafe, O., Adewole, O., Obuotor, E., & Adenowo, K. (2009). Antihyperglycemic activities of *Annona muricata* (Linn). *Afr. J. Trad. CAM*, 6, 62-69.
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 325-348.
- Baxter, K. (2008). *Stockley's Drug Interactions*. (Eighth, Ed.) Grayslake, USA: Pharmaceutical Press.
- Blengio, R., Rivera, B., & Sapiña, S. (2006). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. México : Interamericana.
- Brindis, F., González-Trujano, M., González-Andrade, M., Aguirre-Hernández, E., & Villalobos-Molina, R. (2013). Aqueous Extract of *Annona macrophyllata*: A Potential  $\alpha$ -Glucosidase inhibitor. *Biomed Rest International* .
- Bruton, L., Parker, k., Blumenthal, D., & Buxton, L. (2008). *Manual of Pharmacology and Therapeutics* . USA: McGraw-Hill.
- Calzada, F., Arista, R., & Pérez, H. (2010). Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal-gum acacia-induced hyperperistalsis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 128, 49-51.
- Calzada, F., Velázquez, C., Cedillo-Rivera, R., & Esquivel, B. (2003). Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxysgraveolens* Phytother. *Res.* 17, 731-732.
- Castillo, I., Gonzalez, V., Aguilar, H., Martinez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* , 402-405.
- Castro, J. (2007). *Cultivo de la Anona (Annona cherimola, Mill.)*. San José: Consejo Editorial.
- Duca, F., Coté, C., Rasmussen, B., Zadeh-Tahmasebi, M., Rutter, G., Filippi, B., & Lam, T. (2015). Metformin activates a duodenal Ampk-dependent pathway to lower hepatic glucose production in rats. *Nature Medicine*.
- Flores, J. (1997). *Farmacología Humana*. Barcelona, España: Masson S.A.
- Green, J., & Feinglos, M. (2008). New combination treatments in the management of diabetes: focus on sitagliptin-metformin. *Vascular Health and Risk Management*, 4, 743-751.
- Listyacahyani, A., Sudarsono, S., & Nugroho, A. (2014). Hypoglycemic Effect of Combination of *Azadirachta india* A. Juss. And *Gynura procumbens* (Lour.) Merr

- Ethanollic Extracts Standardized by Rutin and Quercetin in Alloxan-induced Hyperglycemic Rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* , 613-618.
- Lopez, C., Piña, B., Estrada, R., Heinze, G., & Martinez, M. (2006). Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimola* in two anxiety paradigms: Possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complexes. *Life Sciences* , 730-737.
- Martinez, M., Estrada, R., Araujo, A., Ledesma, I., Martinez, L., Moreno, J., & Heinze, G. (2012). Antidepressant-like effects of an alkaloid extract of the aerial of *Annona cherimola* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 164-170.
- Medicina. (1988). *Medicina*. 48(6), 654.
- Medscape. (2015). Drugs and Diseases. *Interactions drugs*.
- Mogrovejo, M. (2009). *Medicina Tradicional, La Chirimoya* . Lima-Peru.
- Monteiro, A., Santa, C., Segal, E., & Alves, D. (2013). Free amino acid composition of *Annona* (Annoceae) fruit species of economic interest. *Industrial Crops and Products*, 373-376.
- Morón, R., & Levy, R. (2002). *Farmacología General*. Cuba: Ciencias Medicas .
- NOM. (2010). Para la prevención, tratamiento y control de la Diabetes Mellitus. *Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010*. México.
- Onge, E., Miller, S., Motycka, C., & DeBerry, A. (2015). A Review of Treatment of type 2 Diabetes in Children. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 4-16.
- PLM. (2014). *Diccionario de Especialidades Medicas* (60 ed.). México: Medicamentos PLM.
- Porasu, T., & Suguna, L. (2015). Efficacy of *Annona squamosa* L in the Synthesis of Glycosaminoglycans and Collagen during Wound Repair in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Hindawi Publishing Corporation* .
- Rajesh, G., Achyut, K., Sandhya, D., Ameetabh, T., Vibha, T., Ramesh, C., & Geeta, W. (2008). In vivo evaluation of anti-oxidant and anti-lipidemic potential of *Annona squamosa* aqueous extract in Type 2 diabetic models. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 21-25.
- Rajesh, K., Achyut, K., P.S, M., R., C., V., T., & Geeta, W. (2005). Hypoglycemic and antidiabetic effect of ethanollic extract of leaves of *Annona squamosa* L. in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 75-81.
- Riddle, M. (2000). Combining Sulfonylureas and Other Oral Agents. *Excerpta Medica Inc.*, 15S-22S.

- Singh, R., Rand, J., Corandini, M., & Morton, J. (2014). Effect of acarbose on postprandial blood glucose concentrations in healthy cats fed low and high carbohydrates diets. *Journal of Feline Medicine and Surgery*.
- Sirichai, A., Sirintorn, Y., Piyawan, C., & Natthakarn, W. (2011). Cyanidin-3-rutinoside alleviates postprandial hyperglycemia and its synergism with acarbose by inhibition of intestinal  $\alpha$ -glucosidase. *J Clin Biochem Nutr.*, 49(1), 36-414.
- Solares, J. (2015). *Actividad Antidiabética y Efecto Sobre algunos Marcadores de Estrés Oxidativo a Partir del Extracto Etanólico de la hojas de Annona cherimola Mill. en Ratas con Diabetes Mellitus 2*. México: IPN-ESM.
- Systems. (2012). *Health statistics and information*. Cause-specific Mortality.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. (2005). Inhibition of  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase by Flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*, 52, 149-153.
- Thangavel, P., & Lonchin, S. (2014). Efficacy of *Annona squamosa* L in the Synthesis of Glycosaminoglycans and Collagen during Wound Repair in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *BioMed Research Internatioanal*, 1-10.
- UNAM. (2009). *Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Mexico: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.
- Velázquez, C., Calzada, F., Torres, J., Gonzalez, F., & Ceballos, G. (2006). Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 103, 66-70.
- Wang, J., Ciaraldi, T., & Samad, F. (2015). Tissue Factor Expression in Obese Type 2 Diabetic Subjects and Its Regulation by Antidiabetic Agents. *J Obes*, 209-216.
- WHO, W. H. (1999). *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications*. Geneva.
- Yan, Q., Feng, C., Fei, G., Jun, S., & Fang, S. (2009). Comparative Evaluation of Quercetin, Isoquercetin and Rutin as Inhibitors of  $\alpha$ -Glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 11463-11468.