



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Estudio del efecto de *Croton guatemalensis* Lotsy., *Hamelia patens* Jacq.,  
*Solanum americanum* Mill., y *Neurolaena lobata* (L.) R. Br., sobre la  
inhibición de las alfa glucosidasas a nivel intestinal.

## TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**CHRISTIAN ALAN CABELLO HERNÁNDEZ**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MEX.

OCTUBRE, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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





# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Estudio del efecto de *Croton guatemalensis* Lotsy., *Hamelia patens* Jacq.,  
*Solanum americanum* Mill., y *Neurolaena lobata* (L.) R. Br., sobre la  
inhibición de las alfa glucosidasas a nivel intestinal.

## TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**CHRISTIAN ALAN CABELLO HERNÁNDEZ**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MEX.

OCTUBRE, 2018

OFICIO FCIE/DEP/990/2018

ASUNTO: Oficio de Jurado

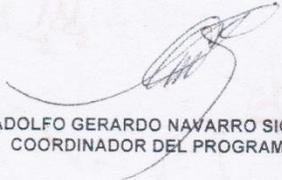
Lic. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **28 de mayo de 2018** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** del (la) alumno(a) **CABELLO HERNÁNDEZ CHRISTIAN ALAN** con número de cuenta **303271196** con la tesis titulada "**Estudio del efecto de *Croton guatemalensis* Lotsy., *Hamelia patens* Jacq., *Solanum americanum* Mill., y *Neurolaena lobata* (L.) R. Br., sobre la inhibición de las alfa glucosidasas a nivel intestinal**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. ADOLFO ANDRADE CETTO**:

Presidente: **DRA. ALICIA ENRIQUETA BRECHÚ FRANCO**  
Vocal: **DRA. NADIA JUDITH JACOBO HERRERA**  
Secretario: **DR. RÉNE DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ**  
Suplente: **DRA. SONIA MARLENE ESCANDÓN RIVERA**  
Suplente: **DRA. RACHEL MATA ESSAYAG**

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 8 de octubre de 2018

  
**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGNS/VMVA/ASR/mnm

### **Agradecimientos institucionales:**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por darme la oportunidad de realizar una maestría.

Al CONACYT por la beca otorgada CVU (437195), y al proyecto DGAPA PAPIIT IN 228216, ya que sin el apoyo económico que me brindaron, no hubiera tenido la oportunidad de estudiar un posgrado.

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto por creer en mí, por apoyarme siempre y por brindarme las herramientas para poder realizar este posgrado.

Al Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez y a la Dra. Rachel Mata Essayag por compartir su experiencia y por aconsejarme en momentos difíciles.

### **Agradecimientos a título personal:**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme todo en la vida; una carrera, un posgrado, una beca, la oportunidad de conocer a personas extraordinarias, un trabajo e incluso una pareja.

A mis sinodales: La Dra. Nadia Judith Jacobo Herrera, la Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco, y la Dra. Sonia Marlen Escandón Rivera, por sus revisiones y consejos en la realización de estas tesis.

A mis padres por apoyarme siempre en las grandes decisiones que han marcado mi vida, y por ser un ejemplo de trabajo, perseverancia y humildad.

A mi hermana por ser mi mejor amiga y mi confidente.

A Anamarel por ser la mejor compañera de vida.

## Índice general

I.	Resumen.....	1
II.	Abstract.....	2
III.	Introducción.....	3
IV.	Objetivos .....	4
V.	Hipótesis.....	5
VI.	Antecedentes .....	6
	Diabetes en el mundo .....	6
	Diabetes en Latinoamérica, el caso específico de Guatemala.....	6
	¿Qué es la diabetes? .....	8
	Clasificación.....	8
	Diabetes tipo 2 .....	9
	Factores de riesgo.....	10
	Diagnóstico.....	11
	Tratamientos para la diabetes.....	12
	alfa-glucosidasas.....	16
	¿Por qué las plantas presentan compuestos con actividad inhibitoria de las enzimas alfa-glucosidasas?.....	18
	Digestión y absorción de carbohidratos .....	19
	Modelos animales y modelo de diabetes NA-STZ (Nicotinamida-Estreptozotocina).....	23
	Medicina tradicional, plantas medicinales y Etnofarmacología. ....	24
	Plantas utilizadas en este estudio .....	26
	a) <i>Croton guatemalensis</i> Lotsy.....	26
	b) <i>Hamelia patens</i> Jacq.....	28
	c) <i>Solanum americanum</i> Mill.....	32
	d) <i>Neurolaena lobata</i> (L.) R. Br. ....	35
VII.	Materiales y métodos .....	37
	a) Extractos .....	37
	b) Reactivos biológicos.....	37
	c) Medición de glucosa .....	38
	d) Inducción de hiperglucemia .....	38

e)	Curvas de tolerancia la maltosa y sacarosa .....	39
f)	Obtención de extracto liofilizado de intestino de rata.....	40
g)	Ensayo <i>in vitro</i> para medir actividad de alfa-glucosidasas.....	41
h)	Análisis estadístico.....	42
VIII.	Resultados.....	43
IX.	Discusión.....	49
X.	Conclusiones .....	53
XI.	Literatura citada.....	54

# **Estudio del efecto de *Croton guatemalensis* Lotsy., *Hamelia patens* Jacq., *Solanum americanum* Mill., y *Neurolaena lobata* (L.) R. Br., sobre la inhibición de las alfa glucosidasas a nivel intestinal.**

## **I. Resumen**

La diabetes y sus complicaciones representan hoy en día uno de los problemas de salud más graves a nivel mundial, en Latinoamérica su prevalencia es alta y su diagnóstico tardío (International Diabetes Federation, 2018; Organización Mundial de la Salud, 2018).

En Guatemala donde la diabetes ocupa la tercera causa de muerte en la población adulta, las personas utilizan plantas medicinales como una alternativa para tratar esta enfermedad (Guerra, 2015; Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

En este estudio se analizó el efecto de los extractos: etanol-agua de la corteza de *Croton guatemalensis*, acuoso de la parte aérea de *Hamelia patens*, acuoso de la parte aérea *Solanum americanum* y acuoso de la parte aérea de *Neurolaena lobata*, sobre los niveles de glucosa plasmática en un modelo *in vivo* en curvas de tolerancia a la maltosa y a la sacarosa y en un modelo *in vitro* sobre la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* y de intestino de rata.

Se encontró que ninguno de los extractos probados disminuyó el pico hiperglucémico en una curva de tolerancia a la maltosa, sin embargo, los extractos de *H. patens*, *S. americanum* y *N. lobata* disminuyeron el pico hiperglucémico en el tiempo 30 min en una curva de tolerancia a la sacarosa.

Todos los extractos disminuyeron la actividad de las alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* y no tuvieron efecto sobre las enzimas de intestino de rata.

## II. Abstract

Today, diabetes and related complications represent one of the most serious health problems worldwide. In Latin America, this disease has become a particular serious problem because of its high prevalence and late diagnosis (International Diabetes Federation, 2018; Organización Mundial de la Salud, 2018).

In Guatemala, diabetes is the third leading cause of death in the adult population. These people use medicinal plants as an alternative to treat this disease (Guerra, 2015; Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

In this study, the *in vivo* effect of four extracts was evaluated on plasma glucose by performing maltose and sucrose tolerance tests: ethanol-water of cortex of *Croton guatemalensis*, aqueous of aerial part of *Hamelia patens*, aqueous of aerial part of *Solanum americanum* and aqueous of aerial part of *Neurolaena lobata*. Furthermore, the extracts effect on the activity of *Saccharomyces cerevisiae*  $\alpha$ -glucosidases and rat intestine enzymes was assayed by using an *in vitro* model.

The results showed that none of the extracts tested decreased the hyperglycemic peak in the maltose tolerance test. On the other hand, the extracts of *H. patens*, *S. americanum* and *N. lobata* decreased the hyperglycemic peak at 30 minutes of the sucrose tolerance test.

All extracts decreased the activity of *Saccharomyces cerevisiae*  $\alpha$ -glucosidases and none had an effect on rat intestine enzymes.

### **III. Introducción**

La diabetes y sus complicaciones son uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, cifras de la Federación Internacional de Diabetes (IDF), arrojan que hoy en día el 8.8% adultos de entre 20 y 79 años es diabético (International Diabetes Federation, 2017).

La diabetes es una enfermedad incurable que tiene un impacto considerable en la calidad y esperanza de vida de los pacientes. Para su tratamiento requiere combinación de dieta, ejercicio y medicamentos, estos últimos pueden llegar a ser una carga económica para los pacientes, por lo que el uso de plantas medicinales como tratamiento para la diabetes es una práctica común en la población guatemalteca sobre todo en lugares donde los servicios de salud son inexistentes o están muy alejados geográficamente (Cruz & Andrade-Cetto, 2015; Andrade-Cetto & Heinrich 2005).

Este estudio tiene como finalidad, evaluar el efecto de cuatro extractos de plantas utilizadas en la medicina tradicional guatemalteca sobre la digestión de los carbohidratos en un modelo *in vivo* e *in vitro*.

#### IV. Objetivos

General.

- Evaluar el efecto de cuatro plantas hipoglucemiantes sobre la absorción de glucosa.

Particulares.

- Probar el efecto de *C. guatemalensis* Lotsy., *H. patens* Jacq., *S. americanum* Mill., y *N. lobata* (L.) R. Br., sobre la glucosa plasmática en curvas de tolerancia a maltosa y sacarosa en ratas diabéticas STZ-NA.
- Determinar el efecto de: *C. guatemalensis* Lotsy., *H. patens* Jacq., *S. americanum* Mill., y *N. lobata* (L.) R. Br., sobre la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* y de intestino de rata en un ensayo *in vitro*.

## V. Hipótesis.

- Los extractos de *C. guatemalensis* Lotsy., *H. patens* Jacq., *S. americanum* Mill., y *N. lobata* (L.) R. Br., inhiben la actividad de las alfa-glucosidasas por lo que reducen el pico hiperglucémico en una curva de tolerancia a la maltosa y a la sacarosa.
- Los extractos de *C. guatemalensis* Lotsy., *H. patens* Jacq., *S. americanum* Mill., y *N. lobata* (L.) R. Br., inhiben la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* y de intestino de rata en un ensayo *in vitro*.

## **VI. Antecedentes**

### **Diabetes en el mundo**

Actualmente existen 425 millones de personas con diabetes en el mundo, las proyecciones a mediano plazo indican que en 25 años esta cifra se incrementará a más de 628.6 millones. Hoy en día uno de cada 11 adultos es diabético lo que equivale al 8.8 % de la población de entre 20 y 79 años. Por otra parte, se estima que el 46.5% de los enfermos no está diagnosticado, existen muchas razones por lo que esto ocurre, una de estas es que los gobiernos no dan prioridad a su diagnóstico, sin embargo, también se debe considerar que la diabetes es una enfermedad “silenciosa”, es decir no presenta síntomas hasta que está muy avanzada y su diagnóstico casi siempre es tardío. El sector salud a nivel mundial está realizando esfuerzos para frenar su crecimiento desmesurado, apostando principalmente a la prevención como estrategia para poder frenar el aumento en la prevalencia de la enfermedad. Por desgracia, cuatro de cada cinco pacientes con diabetes viven en países con ingresos medios y bajos, los costos financieros que se desprenden de la diabetes son enormes pues se estima que el 12.9 % del gasto público en salud a nivel mundial (727 mil millones de dólares) es destinado a su tratamiento, y se calcula que en el 2015 la diabetes fue la culpable directa de 1.5 millones de muertes a nivel mundial. Todo esto la convierte en uno de los problemas de salud más graves del siglo XXI (International Diabetes Federation, 2017; Organización Mundial de la Salud, 2017).

### **Diabetes en Latinoamérica, el caso específico de Guatemala**

Los cambios causados por la migración masiva desde las zonas rurales a las urbanas, han detonado una etapa de transición demográfica, económica, y nutricional en los países de América Latina en los cuales predomina un estilo de vida cada vez más sedentario en donde persisten periodos largos de inactividad física e ingesta de comida con poca relevancia nutricional. En cuanto a la salud, esto ha traído como consecuencia que las enfermedades crónicas no transmisibles (ENT) como las cardiopatías, el cáncer, los accidentes

cerebrovasculares y la diabetes, sean cada vez más persistentes desplazando a las enfermedades de tipo infeccioso como principal causa de muerte (Iniciativa Centroamericana de Diabetes, 2010).

Guatemala es el país de Centroamérica con mayor número de habitantes con un aproximado de 16,2 millones, donde cuatro de cada diez se autodefinen como indígenas, por lo que este país se distingue por su pluralidad y riqueza cultural, lingüística y étnica. Sin embargo, también se encuentra encabezando la lista de países pertenecientes a esta región con mayor número de personas en situación de pobreza y pobreza extrema (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2015)

Los estudios acerca de la prevalencia de diabetes en Guatemala son escasos, sin embargo, los pocos reportes que existen arrojan que en este país aproximadamente del 8 al 10.9% de la población adulta padece diabetes. Los altos índices de sobrepeso, obesidad y sedentarismo son algunas de las causas que han provocado una prevalencia tan alta de esta enfermedad (Guerra, 2015; International Diabetes Federation, 2017).

Se estima que en Guatemala el 40% de la gente que vive con diabetes no está diagnosticada y solo el 20% se trata de manera adecuada, esto genera un grave problema de salud pública, sobre todo si se toma en cuenta que en sus etapas iniciales la diabetes no presenta sintomatología, provocando que el paciente llegue al médico con complicaciones de salud graves como ceguera, falla renal, amputaciones e infarto, lo que en última instancia puede ocasionar la muerte (International Diabetes Federation, 2017; Hernández-Ávila et al., 2013).

La diabetes mellitus representa la tercera causa de muerte en el país siendo responsable del 11.9% del total de muertes en la población en general, solo por debajo de neumonía con un 21,7% e infarto agudo al miocardio con un 16.1%. Sin embargo, vale la pena señalar que estas dos últimas pueden ser consecuencias de una diabetes mal tratada.

El sistema de salud tiene la obligación de elaborar estrategias que estén encaminadas no solo al tratamiento adecuado, sino a combatir la evidente desinformación que existe con respecto al tema de la diabetes en la población en general con la finalidad de realizar un diagnóstico oportuno y sobre todo a crear programas sociales que tengan como principal objetivo la prevención y los cambios en el estilo de vida, para así poder reducir la incidencia de los

factores de riesgo que predisponen a las personas a padecer diabetes. (International Diabetes Federation, 2017; Lozano et al., 2013).

Para poder entender este problema es importante tratar de entender la patogenia de la enfermedad.

### **¿Qué es la diabetes?**

La diabetes se define como: “un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultado de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambos. La hiperglucemia crónica que acompaña a la enfermedad, es en gran medida la responsable de la mayoría de las complicaciones a largo plazo causando daño en diferentes órganos como ojos, riñones, corazón, nervios y vasos sanguíneos” (American Diabetes Association, 2013).

En su etapa inicial, no produce síntomas y cuando no se trata adecuadamente ocasiona complicaciones de salud graves como el infarto al miocardio, ceguera, falla renal, amputaciones de las extremidades y muerte prematura (Fleming et al., 2001).

Las personas con diabetes tipo 2 tienen un alto riesgo de padecer complicaciones microvasculares (retinopatía, nefropatía y neuropatía), y macrovasculares (tales como problemas cardiovasculares) (Fowler, 2008).

### **Clasificación**

De acuerdo a la American Diabetes Association (ADA), la diabetes se puede clasificar en 4 grandes grupos:

- Diabetes tipo 1. Anteriormente conocida como diabetes juvenil o insulino-dependiente, es el tipo de diabetes resultado de la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas, representa del 5 al 10 % del total de casos. Se produce

generalmente en la infancia o en la adolescencia, sin embargo, puede presentarse a cualquier edad, se caracteriza por conducir en algún momento a la deficiencia total de secreción de insulina (American Diabetes Association, 2015).

- Diabetes tipo 2. Representa del 90 al 95 % del total de casos de diabetes (American Diabetes Association, 2015) se caracteriza porque el cuerpo es capaz de producir insulina, pero se vuelve resistente a esta de modo que la insulina es ineficaz, con el tiempo los niveles de insulina pueden llegar a ser insuficientes, lo que desencadena una hiperglucemia (International Diabetes Federation, 2015).
- Diabetes gestacional. Se ha definido como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con el inicio en el primer trimestre de embarazo, siendo que generalmente al término del mismo los niveles de glucosa regresan a la normalidad, sin embargo, esta puede persistir aun después del término del mismo (American Diabetes Association, 2015).
- Otros tipos específicos de diabetes. Se refiere a otras causas que dan como resultado la aparición de la diabetes, por ejemplo: síndromes de diabetes monogénicas, como la diabetes MODY, enfermedades del páncreas exocrino como la fibrosis quística y la diabetes inducida por fármacos o químicos, como en el uso de glucocorticoides, o después de un trasplante de órganos (American Diabetes Association, 2015).

## **Diabetes tipo 2**

Se trata del tipo de diabetes más común, se caracteriza por un deterioro en la homeostasis de los carbohidratos, lípidos y proteínas como resultado de la alteración en la secreción de la insulina, acción de la insulina o ambas (DeFronzo et al., 2015).

La diabetes tipo 2 está precedida por una condición denominada prediabetes la cual predispone a los individuos a padecer la enfermedad. La prediabetes se caracteriza por cualquiera de las siguientes alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos:

Alteración de la glucosa en ayunas (IFG). Los individuos con IFG se caracterizan por presentar niveles altos de glucosa en ayunas, pero sin cumplir con los criterios diagnóstico de la diabetes.

Tolerancia anormal a la glucosa (IGT). En personas con IGT existe un deterioro en la homeostasis de la glucosa de manera que esta se manifiesta como un aumento desmesurado de la glucosa postprandial.

Aumento en la hemoglobina glicada A1c (HbA1c). Las personas con prediabetes presentan niveles altos de HbA1c (de entre 5.7-6.4%) (International Diabetes Federation, 2015).

### **Factores de riesgo**

La diabetes tipo 2 se presenta cada vez a edades más tempranas afectando a adolescentes y adultos jóvenes, las causas de esta epidemia son muy complejas e incluyen una serie de factores genéticos y ambientales que contribuyen a la aparición de esta enfermedad (Cuadro 1). El sobrepeso y la obesidad tanto en adultos como en jóvenes están relacionados con la aparición de la diabetes, las tasas de prevalencia de diabetes varían en relación con la etnia y la ubicación geográfica a la cual pertenezca el paciente, por ejemplo, en Australia la incidencia de la enfermedad es seis veces mayor en las tribus indígenas que en la población en general. Así mismo la aparición de la prediabetes a edades más tempranas influye en la incidencia de diabetes. También se ha encontrado que el tener un bajo peso al nacer está asociado con una mayor posibilidad de padecer diabetes en edades adultas (Chen, Magliano & Zimmet, 2012).

**Cuadro 1. Factores de riesgo para diabetes tipo 2**

Modificables	No modificables
<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ El sobrepeso y la obesidad</li> <li>❖ Comportamiento sedentario</li> <li>❖ Fumar</li> <li>❖ Tolerancia anormal a la glucosa y glucosa alterada en ayunas</li> <li>❖ Lípidos anormales (triglicéridos elevados, niveles bajos de HDL)</li> <li>❖ Hipertensión</li> <li>❖ Ambiente intrauterino</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Edad</li> <li>❖ Etnia</li> <li>❖ Historia familiar</li> <li>❖ Antecedentes de diabetes gestacional</li> <li>❖ Síndrome de ovario poliquístico</li> </ul>

Cuadro 1. Factores de riesgo modificables y no modificables para diabetes tipo 2. (Tomado de Chen et al., 2012).

### **Diagnóstico**

Los criterios de diagnósticos de la diabetes se han basado tradicionalmente en los niveles de glucosa en sangre, tanto en ayunas (con 8 horas de ayuno), como después de una ingesta de 75g de glucosa en una prueba de tolerancia a la misma. Recientemente se ha añadido la HbA1c como una medida integral de los niveles de glucosa a largo plazo (el tiempo de vida de un glóbulo rojo es de aproximadamente 4 meses). Estos métodos son utilizados de igual manera para diagnosticar la pre-diabetes (Cuadro 2) (DeFronzo et al., 2015).

## Cuadro 2. Diagnóstico de diabetes

	Normal	Prediabetes	Diabetes
Hemoglobina glicada	<5.7%	5.7-6.4 %	≥6.5%
Glucosa en ayuno (tomada con al menos 8 horas de ayuno)	<100 mg/dL	100-125 mg/dL (5.6-6.9 mmol/L)	≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L)
Prueba de tolerancia a la glucosa (tomada después de la administración oral de una carga de glucosa de 75 g)	<140 mg/dL	140-199 mg/dL (7.8-11.0 mmol/L)	≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)

Cuadro 2. Valores de glucosa de referencia para diagnosticar diabetes tipo 2 (Modificado de DeFronzo et al., 2015).

### Tratamientos para la diabetes

Actualmente el control y manejo de la glucosa sigue siendo el eje central a través del cual se desarrolla el tratamiento para la diabetes. Existen diferentes medicamentos que tienen como finalidad el control de la glucemia, sin embargo, se debe de tomar en cuenta que la elección de uno de estos fármacos debe realizarse con base en un manejo integral de la enfermedad, tratando de reducir todos los factores de riesgo a los cuales está expuesto el paciente, de tal manera que este se asegure de disminuir o retardar la aparición de complicaciones. Lo ideal es realizar un tratamiento de tipo personalizado de acuerdo al estado de salud del individuo, el avance de la enfermedad y la edad. De esta manera se puede escoger el o los fármacos más adecuados para cada paciente que en combinación con cambios en el estilo de vida (ejercicio y una alimentación adecuada) den como resultado el mejor control de la diabetes (Inzucchi et al., 2015).

Los hipoglucemiantes orales son fármacos que se han desarrollado para el control de la diabetes, se pueden clasificar de acuerdo a su mecanismo de acción, algunos de los más utilizados son los siguientes:

- a) **Biguanidas:** la metformina es el medicamento antidiabético más prescrito en todo el mundo, se utiliza desde los años 50, sin embargo, su mecanismo de acción no ha sido del todo dilucidado. La metformina es un derivado de la galegina descubierta desde la década de los 20 en los extractos de la planta *Galena officinalis*. A nivel mitocondrial inhibe el complejo 1 de la cadena transportadora de electrones produciendo un incremento de ADP y AMP, los cuales activan a la AMPK a través de la cinasa hepática LKB1, produciendo como efecto la inhibición de la gluconeogénesis, la translocación de los transportadores GLUT-4 en musculo esquelético, tejido adiposo y la reducción de la oxidación de los ácidos grasos (Ovalle, 2016; Pernicova & Korbonits, 2014).
- b) **Sulfonilureas y meglitinidas:** Actúan estimulando la secreción de la insulina por parte de las células  $\beta$  del páncreas. En el caso de las sulfonilureas las hay de primera (tolbutamida, tolazamida, etc) y de segunda generación (glibenclamida, gliburida, etc). Estos fármacos se unen a receptores SUR1 en la membrana celular de los islotes pancreáticos, induciendo el cierre de los canales de  $K^+$  dependientes de ATP, lo que provoca la despolarización de la membrana celular conduciendo a la apertura de los canales de calcio voltaje-dependientes; el aumento de  $Ca^{+}$  en el citosol desencadena la exocitosis de la insulina a través de gránulos maduros (García-Luna, 2016).  
Por su parte, las meglitinidas (nateglinida y repaglinida) actúan de manera similar a las sulfonilureas, pero se unen a un receptor diferente. Su eficacia es similar, pero presentan un efecto más inmediato (30 minutos) y su efecto dura apenas unas 4 horas (Cervera & Crespi, 2010).
- c) **Tiazolidinedionas:** (pioglitazona, rosiglitazona, etc) las tiazolidinedionas son fármacos que reducen la resistencia a la insulina y producen un aumento en la secreción de la insulina endógena. El tratamiento con las glitazonas reestablece y mejora la función de la célula  $\beta$ , son los medicamentos de elección para tratar la resistencia a la insulina (Herrera, 2008). Su mecanismo de acción consiste en aumentar la captación y utilización de glucosa por el musculo y el tejido adiposo

principalmente, mediante su unión a los receptores activados de proliferación de los peroxisomas (PPAR $\gamma$ ). Estos receptores regulan la transcripción de genes responsables de las acciones de la insulina (Cervera & Crespi 2010).

- d) Miméticos a incretinas e inhibidores de la enzima dipeptidilpeptidaza 4 (DPP-4): Las incretinas son hormonas secretadas por células del intestino en respuesta a la ingesta de glucosa, sus principales efectos se centran en promover la secreción de insulina por parte de las células  $\beta$ , disminuir el apetito, hacer más lento el vaciado gástrico y suprimir la liberación de glucagón. El fármaco exenatida presenta una estructura análoga a la incretina GLP-1, por lo que sus efectos se basan en su similitud, uniéndose a su receptor y activándolo, sin embargo, el hecho de que no tenga exactamente la misma estructura impide que sea degradado tan rápidamente por parte de la enzima DPP-1 (Cervera & Crespi 2010). Por su parte los inhibidores de la DPP-4 (sintaglinina, linagliptina, etc) evitan que estas enzimas degraden las incretinas, incrementando su vida media y permitiendo que los efectos de estas permanezcan más tiempo (Álvarez & Jackson, 2014).
- e) Inhibidores de las enzimas alfa-glucosidasas (acarbose, miglitol, voglibosa): Su mecanismo de acción se basa en la inhibición competitiva de las enzimas alfa-glucosidasas, ubicadas en la microvellosidad del lumen intestinal, estas enzimas se encargan de hidrolizar los oligosacáridos provenientes de la ingesta para poder ser absorbidos por el enterocito.

Algunos derivados de azúcares sintetizados por ciertas cepas de actinomicetos inhiben la actividad de las carbohidrasas, la acarbose es uno de estos, se aisló originalmente a partir de filtrados de cultivo de *Actinoplanes utahensis* y es un potente inhibidor de las enzimas alfa-glucosidasas en un rango de potencia inhibitoria que va de la glucoamilasa > sacarasa > maltasa > isomaltasa (Clissold, 1988). Su mecanismo de acción se basa en la inhibición competitiva de estas enzimas, acoplándose a los sitios de unión a carbohidratos con una constante de afinidad mayor que la del sustrato normal (monosacáridos y oligosacáridos provenientes de la ingesta de comida).

La acarbosa es un seudooligosacárido que presenta características estructurales de un tetrasacárido (Figura 1), lo que le confiere la capacidad de acoplamiento a la enzima en los sitios de unión a carbohidratos (Kimura et al., 2004).

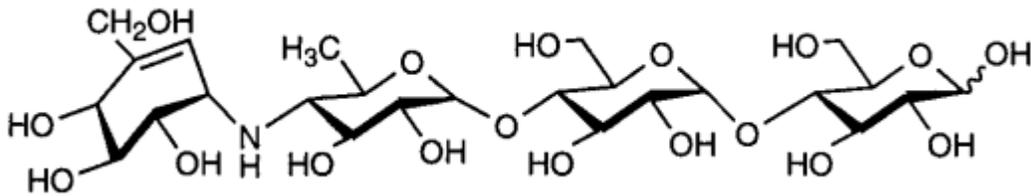


Figura 1. Estructura química de la acarbosa tomado de Brzozowki & Davies, 1997.

La acarbosa no atraviesa las células del intestino, por lo que su acción farmacológica se efectúa exclusivamente sobre las alfa-glucosidasas intestinales. El efecto del tratamiento con inhibidores de alfa-glucosidasas es una ralentización en la digestión de carbohidratos complejos y un posterior retraso en la absorción de la glucosa (debido a la naturaleza reversible de la interacción formada entre la enzima y la acarbosa, es que se habla de un retraso y no de un completo bloqueo en la digestión de carbohidratos) lo que provoca la disminución del pico hiperglucémico postprandial, siendo de gran ayuda en la búsqueda de la homeostasis de la glucosa en pacientes diabéticos (Salvatore & Giugliano, 1996).

La acarbosa puede ser administrada como terapia de primera línea en pacientes en los que la dieta y el ejercicio no son suficientes para controlar la enfermedad, sin embargo, a propósito de obtener un mejor control de la glucosa y debido a su poca absorción y su efecto localizado en el intestino, frecuentemente este fármaco se administra acompañado con algún otro medicamento que tenga un blanco terapéutico diferente como lo son las sulfonilureas o las biguanidas con la finalidad de poder contrarrestar a más de uno de los múltiples desórdenes metabólicos que presenta esta enfermedad (Clissold & Edwards, 1988; Salvatore & Giugliano, 1996).

Los efectos adversos de la terapia con acarbosa se presentan en aproximadamente el 60% de los pacientes y se describen en general como malestares gastrointestinales

(dolor abdominal, diarrea y exceso de gases) y son el resultado de la fermentación de los carbohidratos no absorbidos en el intestino delgado por parte de las bacterias que habitan el intestino grueso. Se ha demostrado que la molestia disminuye con el tiempo y pueden ser atenuados con una reducción en la dosis de acarbosa (Clissold & Edwards, 1988).

Este fármaco se administra vía oral y la dosis debe ser adaptada de acuerdo a las necesidades de cada paciente, sin embargo, se recomienda empezar por 50 mg 3 veces al día antes de cada comida llegándose a administrar hasta 200 mg por vez. La recomendación es comenzar con la dosis más baja con la finalidad de reducir los síntomas gastrointestinales adversos (Clissold & Edwards, 1988).

La acarbosa, inhibe las alfa-glucosidasas en diferente medida de acuerdo al origen de la enzima. De esta manera se ha comprobado que este fármaco presenta un efecto mayor cuando proviene de intestino de mamífero (conejo, rata, cerdo), mientras que su capacidad inhibitoria disminuye con las procedentes de *Saccharomyces cerevisiae* (Oki, Matsui & Osajima, 1999).

### **alfa-glucosidasas**

Las glucosidasas, también llamadas glucósido hidrolasas (GH), son enzimas que se especializan en la escisión de los enlaces glucosídicos de oligosacáridos y polisacáridos. (Borges de Melo et al., 2006).

Las alfa-glucosidasas son enzimas que están presentes en la mayoría de los seres vivos: bacterias, hongos, plantas, insectos, mamíferos, etc, desempeñando papeles importantes funciones biológicas. De tal manera que cuando existe una anomalía en su actividad, ya sea por mutación, supresión o inhibición, las consecuencias pueden ser significativas, así, por ejemplo, una inhibición de estas enzimas puede influir en gran medida en el metabolismo del almidón en las plantas o la absorción de carbohidratos en los animales. En humanos la enfermedad de "Pompe" está relacionada con la ausencia de alfa-glucosidasas que catalizan

la hidrólisis de glucógeno en los lisosomas del hígado, corazón, músculo esquelético y riñón (Okuyama et al., 2016).

En mamíferos estas enzimas son importantes en el proceso de digestión y absorción de carbohidratos, se localizan en el borde de cepillo de la microvellosidad de duodeno y tercio superior del yeyuno, aunque también se han identificado en el yeyuno inferior e íleon (Figura 2). Su función es catalizar la escisión de los enlaces alfa-glucosídicos en los extremos no reductores de los carbohidratos provenientes de la ingesta, con la finalidad de liberar glucosa y otros monosacáridos como galactosa o fructosa, para que puedan ser absorbidos por los enterocitos en el lumen intestinal (Langman & Rowland, 1990; Okuyama et al., 2016; kimura et al., 2004).

**Figura 2. Morfología de la mucosa intestinal**

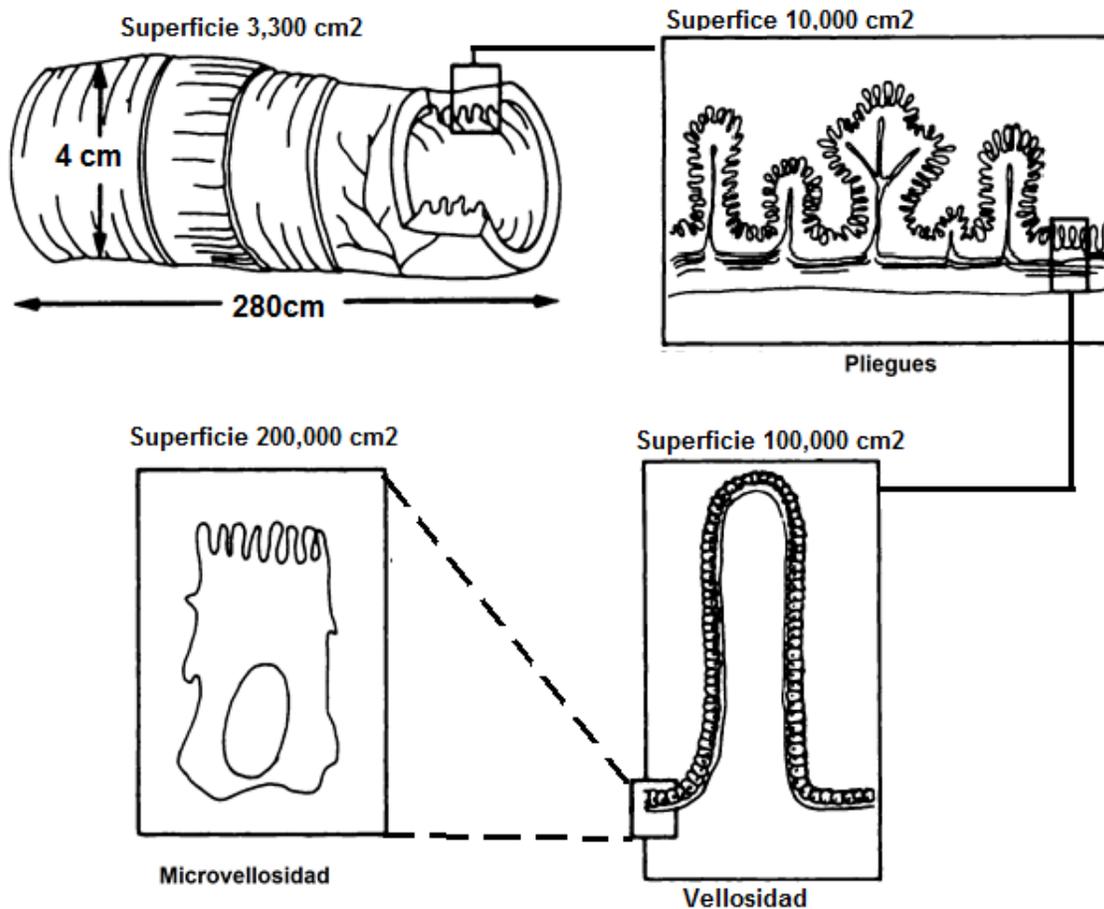


Figura 2. Estructuras morfológicas de la mucosa del intestino delgado, debido a los pliegues, vellosidades y microvellosidades se adquiere una superficie de contacto considerablemente mayor para la digestión y absorción de los alimentos (modificado de Caspary, 1992).

Las glucósido hidrolasas se clasifican de acuerdo a la similitud en sus secuencias de aminoácidos en más de 100 familias denominadas GH1, GH2, GH3... etc. Cada una de estas familias está compuesta por enzimas relacionadas con base en su secuencia de proteínas y su estructura, lo que permite realizar predicciones acerca de su maquinaria catalítica. En el caso específico de las alfa-glucosidasas, estas pertenecen a las familias GH13 y GH31 (Okuyama et al., 2016; Carbohydrate-Active Enzyme, 2016).

Asimismo la especificidad a sus sustratos se utiliza como criterio para clasificar estas enzimas, de este modo existen alfa-glucosidasas de tipo I las cuales muestran una mayor actividad hacia sustratos heterogéneos como la sacarosa y p-nitrofenol- $\alpha$ -glucopiranosido (PNPG) se encuentran en levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, insectos y bacterias, mientras que las alfa-glucosidasas de tipo II hidrolizan más eficientemente sustratos homogéneos como la maltosa y se hallan en mamíferos y plantas. También se encontró otras diferencias entre las dos familias, la familia I presenta cuatro regiones catalíticas, mientras que la familia II presenta dos regiones catalíticas (Kimura et al., 2004; Kimura, 2000).

### **¿Por qué las plantas presentan compuestos con actividad inhibitoria de las enzimas alfa-glucosidasas?**

Todos los organismos vivientes presentan interacciones con otras formas de vida y con el ambiente que los rodea, en el caso de las plantas estas relaciones provocan que se produzca una serie de respuestas adaptativas que les permite mejorar su crecimiento y nutrición, además de optimizar su tolerancia al estrés, favorecer la atracción de polinizadores y desarrollar protección contra depredadores (Gómez, M. R., & Rodríguez, 2012).

Entre los mecanismos de defensa desarrollados por las plantas se encuentran: la producción de sustancias en forma de metabolitos secundarios y proteínas que afectan la fisiología de los depredadores, también la acumulación de lignina y de celulosa las cuales proveen barreras

físicas evitando que estos puedan alimentarse de las partes blandas de la planta, esto combinado con el desarrollo de estructuras especializadas como espinas y tricomas forman las estrategias de defensa de las cuales las plantas dependen para asegurar su adecuado crecimiento y reproducción, cada una provee un mecanismo de protección diferente y es eficaz contra distintos tipos de depredadores (Singh et al., 2015; Gómez, M. R., & Rodríguez, 2012; Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, 2003).

Algunas de las estrategias que utilizan las plantas contra la depredación por insectos se basan en la producción de inhibidores de enzimas que afecten el desarrollo y crecimiento de los mismos, tal es el caso de los inhibidores de las alfa-glucosidasas. Las alfa-glucosidasas como ya se han mencionado son enzimas que están ampliamente distribuidas en gran parte de las formas de vida, esto hace evidente su importancia biológica, en el caso de los insectos estas enzimas se encuentran en el intestino, las secreciones salivales y la hemolinfa teniendo funciones digestivas principalmente, de tal manera que una falta o mal funcionamiento de estas provoca problemas en la absorción de nutrientes y trae como consecuencia un desarrollo inadecuado del insecto afectando su sobrevivencia (Ramzi & Hosseinaveh, 2010; Mury et al., 2009).

Así mismo la agricultura hoy en día se encuentra en una lucha constante contra los insectos depredadores de las cosechas, lo que ha dado lugar a una utilización indiscriminada de insecticidas causando serios problemas ambientales y de salud, además de la aparición de insectos resistentes. Esto ha provocado una búsqueda de alternativas a los plaguicidas sintéticos. En las últimas décadas se ha intensificado la investigación en relación a los mecanismos de defensa que poseen las plantas como una alternativa al uso indiscriminado de compuestos químicos para el control de las plagas (Carlini & Grossi-de-Sá, 2002)

## **Digestión y absorción de carbohidratos**

Los carbohidratos constituyen la fuente principal de energía para el ser humano, la mayor parte de estos provienen de plantas como el almidón, fructosa, glucosa, sacarosa etc., aunque algunos como la lactosa y la trealosa proceden de alimentos de origen animal. Estos

macronutrientes pueden ser ingeridos en una gran variedad de formas y estructuras químicas, incluyendo monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (Quezada-Calvillo & Nichols, 2009). De los carbohidratos ingeridos en la dieta, el almidón es el más abundante, y puede aportar hasta un 70 - 80% del aporte calórico (Lee, & Hamaker, 2016).

La digestión y absorción de carbohidratos puede tener lugar a lo largo de todo el intestino delgado e incluso esta puede desplazarse al íleon cuando la dieta se compone de más carbohidratos de digestión lenta o cuando se ingiere inhibidores de alfa-glucosidasas, como en el caso de personas que utilizan acarbose como tratamiento para el control de la diabetes.

La absorción de los carbohidratos solo ocurre cuando estos se encuentran en forma de monosacáridos; los oligosacáridos y polisacáridos como el almidón tienen que ser hidrolizados, esto es posible gracias a la acción de una serie de enzimas que se encuentran a lo largo del tracto digestivo. El aporte nutricional de los carbohidratos depende de la capacidad del tracto gastrointestinal para poder digerirlos (Castrejon, Carbó & Martínez., 2007).

La digestión del almidón comienza en la boca con las amilasas salivales, estas enzimas funcionan de manera adecuada a un pH de alrededor de 7, por lo que esta primera etapa tiene una corta duración y ocurre solo en la boca y en el esófago ya que el ambiente ácido del estómago inhibe su actividad de manera que la descomposición del almidón se reanuda en el duodeno por las amilasas pancreáticas, siendo que estas presentan mayor actividad que las salivales. Tanto las amilasas salivales como las pancreáticas actúan rompiendo los enlaces alfa-1,4 de los polisacáridos dando como productos moléculas de maltosa, maltotriosa, alfa-dextrinas y glucosa aunque en muy poca cantidad, a su vez estas moléculas son hidrolizadas por las alfa-glucosidasas presentes en las microvellosidades del borde de cepillo del intestino delgado (Figura 2), estas enzimas son sintetizadas por los enterocitos y se encuentran ancladas en la membrana, siendo que la mayor parte de su masa se encuentra expuesta al medio acuoso de la luz intestinal donde junto con las proteínas transportadoras de glucosa forman parte de la maquinaria de hidrólisis y absorción de carbohidratos. Las alfa-glucosidasas presentes en el intestino, se pueden clasificar de acuerdo al sustrato al que hidrolizan con mayor afinidad en: maltasas que hidrolizan principalmente maltosa, glucoamilasas que degradan maltosa, maltotriosa y dextrina límite y el complejo formado

por isomaltasa-sacarasa que puede degradar sacarosa, dextrina límite y maltosa (Figura 3) (Caspary, 1992).

**Figura 3. Digestión de carbohidratos en intestino**

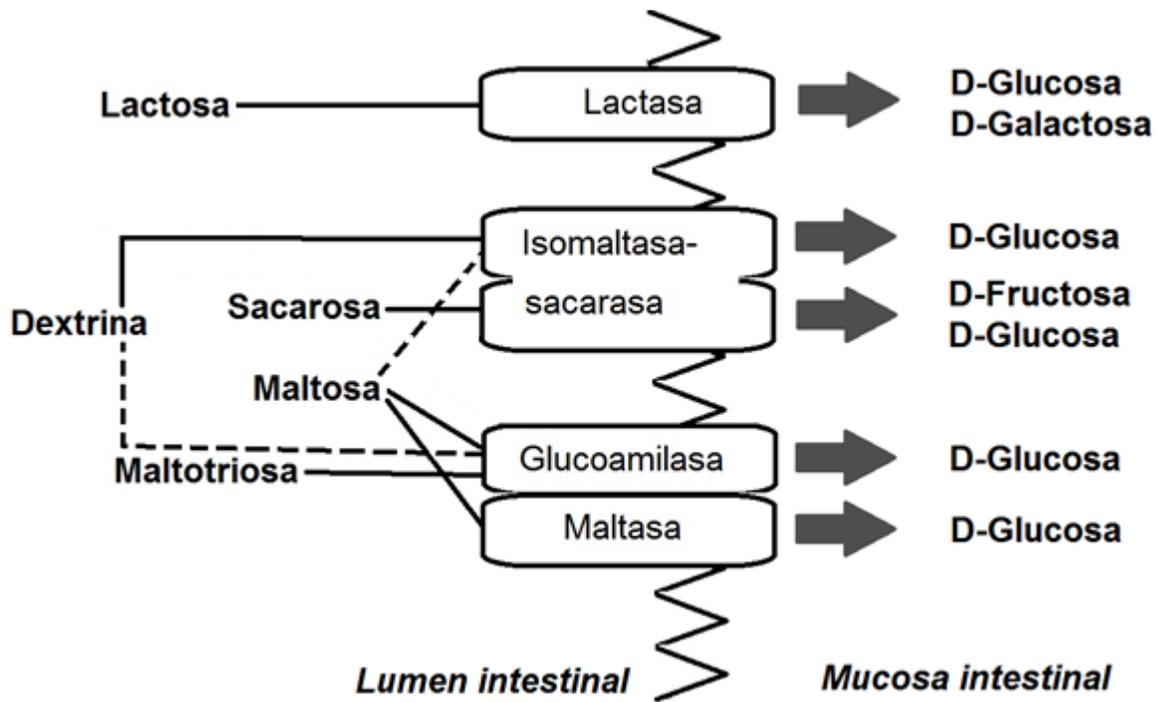


Figura 3. Digestión de carbohidratos en el intestino delgado (modificado de Caspary, 1992; Pérez-Tenorio 2016).

Otro importante carbohidrato en la dieta humana sobre todo a edades tempranas es la lactosa, que forma parte de los componentes nutricionales de la leche. La enzima encargada de degradar este carbohidrato es una beta-glucosidasa y se denomina lactasa, esta se encuentra muy activa en los bebés lactantes, sin embargo, conforme las personas envejecen su actividad se reduce, esto puede acarrear molestias digestivas en lo que se conoce como intolerancia a la lactosa.

Los monosacáridos provenientes de la hidrólisis del almidón son absorbidos por los enterocitos para poder ser depositados en el torrente sanguíneo. La participación de tres tipos de proteínas es crucial para que esto se lleve a cabo, en primera instancia se encuentran las proteínas acopladas a sodio SGLT1, las cuales gracias a un co-transporte de  $\text{Na}^+$ , promueven

la entrada de una molécula de galactosa o glucosa por cada dos moléculas de  $\text{Na}^+$  desde el lumen intestinal hacia el interior del enterocito. Por otra parte, también se encuentran las proteínas transportadoras GLUT5, que mediante difusión facilitada transportan una molécula de fructosa al interior, en donde a su vez es transportada hacia el torrente sanguíneo gracias al GLUT2. La homeostasis entre las concentraciones de  $\text{Na}^+$  en el interior de la célula es regulada gracias a una  $\text{Na}^+$  K ATPasa, situada en la membrana basolateral del enterocito. (Figura 4) (García-Luna & López-Gallardo, 2007).

**Figura 4. Absorción de carbohidratos en intestino**

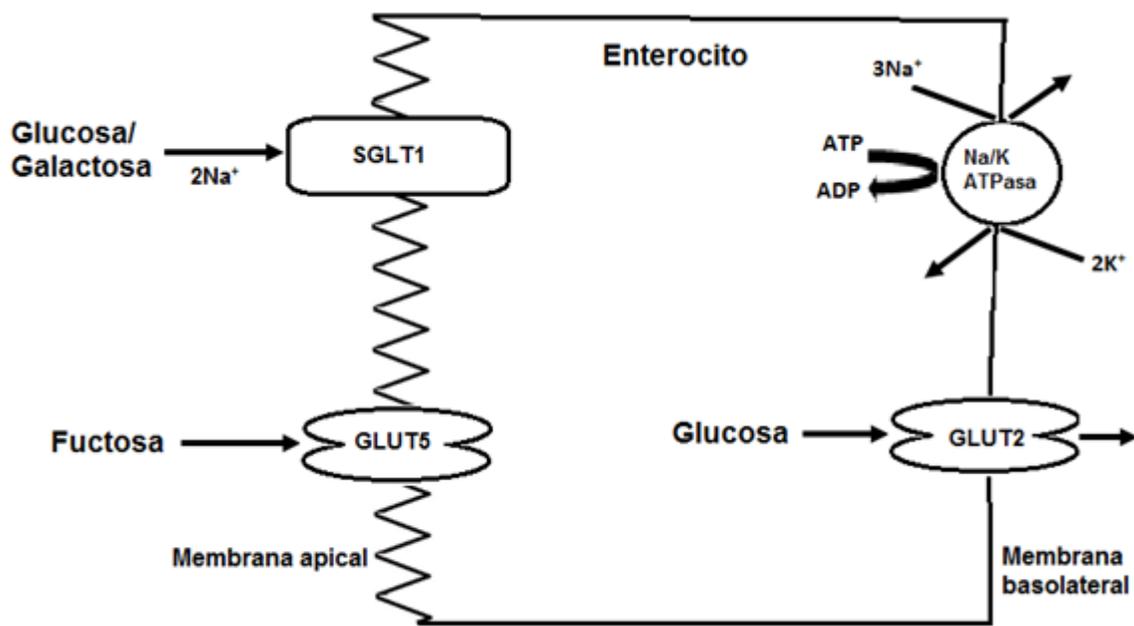


Figura 4. Transporte de carbohidratos a través de los enterocitos en el intestino (modificado de Castrejon et al., 2007).

Gran parte de la investigación científica se realiza utilizando animales de laboratorio para poder medir la respuesta a cierto tratamiento en un ser vivo completo de tal manera que pueda medir o cuantificar todos los parámetros que el investigador crea conveniente. En este trabajo se hicieron curvas de tolerancia a maltosa y sacarosa en ratas diabéticas.

## **Modelos animales y modelo de diabetes NA-STZ (Nicotinamida-Estreptozotocina)**

La utilización de modelos animales para el estudio de todo tipo de enfermedades ha sido una pieza clave en la búsqueda de sus mecanismos fisiopatológicos y en el desarrollo de nuevos fármacos, evitando hacer estudios innecesarios y éticamente cuestionables en humanos. En el caso de la diabetes, estos modelos buscan reproducir algunos aspectos de la enfermedad como la patogénesis, la historia natural o hacer énfasis en algunas de las complicaciones específicas, sin embargo, aún no se ha podido crear un modelo que imite fielmente la diabetes que se desarrolla en los humanos (Etuk, 2010; Radenković, Stojanović & Prostran, 2016).

Los modelos animales para el estudio de la diabetes se desarrollan en diferentes especies, como monos, cerdos, conejos, ratones y ratas, siendo estas últimas las más utilizadas representando hasta el 85% de todos los modelos existentes. La diabetes mellitus experimental, puede desarrollarse mediante manipulación genética, quirúrgica, inducción hormonal o mediante la administración de algunos químicos. Los más utilizados son el aloxan y la estreptozotocina (STZ) (Radenkovic et al., 2016).

La STZ es un antibiótico de origen fúngico sintetizado por *Streptomyces achromogenes*, que se ha utilizado como agente quimioterapéutico debido a su actividad alquilante. Tiene una estructura similar a la glucosa por lo que las células beta de los islotes pancreáticos son especialmente sensibles a la acción de este fármaco debido a su afinidad con los transportadores GLUT2 en la membrana plasmática, de tal manera que no es tóxico para las células que no lo expresen. La importancia del papel de este transportador, se hace evidente debido al daño localizado en tejidos que también lo expresan como hígado y riñones (Lenzen, 2008; Randekovic et al., 2016).

La acción citotóxica de la STZ se debe a la alquilación del ADN por parte de su fracción metilnitrosurea que dona un grupo metilo a sus bases; aunque también se han propuesto al menos otros dos mecanismos de daño (la liberación de óxido nitroso por parte de la molécula de STZ y la generación de especies reactivas de oxígeno ROS). La alquilación del ADN por parte de la STZ es el resultado de la capacidad de su fracción metilnitrosurea que alquila las bases del ADN especialmente en el O<sub>6</sub> de la guanina, esto produce una serie de eventos que dan como resultado la fragmentación y destrucción del ADN, proceso que moviliza

mecanismos de reparación. Uno de estos es la activación de la poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1), la cual en su intento por reparar el daño es sobreestimulada lo que provoca que disminuya el NAD<sup>+</sup> celular, ocasionando un descenso en las reservas de ATP, produciendo muerte celular. Aunque también ocurre la metilación de proteínas, se considera que el daño al ADN y su intento por ser reparado, juega el papel más importante en el proceso de muerte celular, sin embargo, la metilación de proteínas puede contribuir a los defectos en las funciones de las células beta después de la exposición a la STZ (Lenzen, 2008).

La administración de algunas sustancias puede inhibir o atenuar el efecto de la STZ sobre las células beta. La nicotinamida (NA) es un inhibidor de la PARP-1 y un precursor de NAD<sup>+</sup> que se administra en paralelo o antes de la inyección de la STZ protegiendo a las células de su acción citotóxica. La gravedad de la destrucción en la población de las células beta utilizando este modelo puede ser controlada en función de las dosis de STZ y NA administradas, de tal manera que puede desarrollarse una hiperglucemia severa o moderada (Szkudelski, 2012).

Para evaluar el efecto de cuatro plantas hipoglucemiantes en este trabajo se empleó el modelo propuesto por Masiello, (1998) (con modificaciones) el cual consiste en administrar vía intraperitoneal una dosis de 150 mg/kg de NA y 15 minutos después vía intravenosa una dosis de 65 mg/kg de STZ, obteniendo de esta manera un modelo animal que reproduce algunos aspectos de la diabetes tipo II en humanos, como lo es la hiperglucemia, deficiencia en la secreción de la insulina, y la respuesta a secretagogos de insulina (Masiello et al., 1998).

### **Medicina tradicional, plantas medicinales y Etnofarmacología.**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la medicina tradicional complementaria (MTC) contribuye a asegurar el acceso a la salud a la mayoría de las personas en todo el mundo, en algunas regiones el uso de MTC es la única fuente de atención sanitaria o por lo menos la más inmediata y accesible. El uso de plantas como tratamiento para diversas enfermedades se incorpora dentro de los alcances de la medicina tradicional, la cual según la OMS se define como: "los métodos, prácticas, conocimientos y creencias que incorporan

plantas, animales, minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, así como para tratar, diagnosticar y prevenir una enfermedad”. En el contexto histórico el uso de plantas con propiedades terapéuticas es tan antiguo como la humanidad misma, existen registros fósiles del paleolítico medio (hace 60,000 años) que indican el uso de plantas como medicamentos por los primeros grupos humanos (Gilani, 2005; Organización Mundial de la Salud, 2013).

Se calcula que a mediados del siglo XIX el 80 % de todos los medicamentos existentes eran derivados de plantas. Hoy en día la industria farmacéutica utiliza, extractos de plantas o productos químicos derivados de las mismas para desarrollar nuevas medicinas para el tratamiento de toda clase de enfermedades. Aunado a esto, actualmente existe un resurgimiento del interés por productos de origen natural debido a la enorme biodiversidad existente en el planeta (sobre todo en las selvas tropicales) y el descubrimiento de varias especies de plantas que pueden ser la clave para obtener nuevas moléculas farmacológicamente activas que ayuden en el tratamiento de enfermedades que aquejan a la población mundial, como lo son el cáncer y la diabetes (Gilani, 2005; Stepp & Moerman, 2001).

Al respecto la Etnofarmacología juega un papel muy importante, su enfoque, sistemas y métodos sirven de base para el desarrollo de nuevos medicamentos, ya que aporta nuevas moléculas que pueden ser aisladas y/o modificadas para diseñar fármacos más potentes y con menos efectos secundarios (Patwardhan, 2005; Andrade-Cetto & Heinrich 2011).

Desde principios de los años 60 hasta la actualidad, se ha estudiado el efecto de muchos compuestos y moléculas de origen natural, especialmente los que proceden de plantas y hongos, que actúan inhibiendo las enzimas alfa-glucosidasas y que pueden ser factibles de utilizarse para el control de la diabetes (Shu, 1998; Lillelud et al., 2002).

## Plantas utilizadas en este estudio

### a) *Croton guatemalensis* Lotsy.

Clasificación:

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Croton*

Especie: *Croton guatemalensis* Lotsy.

Sinonimias: *Croton eluterioides* Lotsy,

*Croton pyriyicus* Croizat,

*Croton wilburii* McVaugh (Trópicos, 2016a)

Nombre común: vara blanca, cascarillo, palo blanco, huilote, chulche, copalchi (Enciclovida, 2016a; Cruz & Andrade-Cetto, 2015)



Imagen 1. Fotografía de *C. guatemalensis* Lotsy. (Tomado de Trópicos, 2016a)

**Hábitat y forma de vida:** árbol pequeño de hasta 6 m de altura, se distribuye en las zonas tropicales y subtropicales de América incluyendo México, Colombia, Ecuador, Guatemala. **Flores:** pequeñas, con pétalos de colores blancos y muy fragantes, se disponen en racimos axilares o terminales. **Hojas:** pecioladas, escasas, alternas, ovaladas-lanceoladas de aproximadamente 5 cm de largo, presenta escamas blanquecinas. **Fruto:** en forma de cápsula separada en tres partes (Grieve, 2016; Henriette's-herb, 2016, León Levy Native Preserve, 2016).

## Usos.

**Cuadro 3. Usos de *C. guatemalensis***

País	Uso
Brasil	Para aliviar malestares estomacales, diarrea, dispepsia, fiebre, hemorroides, hipertensión arterial, insuficiencia urinaria y como tónico
México	Tónico, tratamiento de la diabetes.
Europa	Bronquitis, cólicos, diarrea, fiebre, náuseas, hinchazón intestinal, expectorante, tónico
Turquía	Tónico, molestias digestivas
En otras partes	antiparasitario, antibacteriano, antimalárico, antituberculoso, analgésico, antiasmático

Cuadro 3. Usos de *C. guatemalensis* (Rain-tree, 2016a; Cruz & Andrade-Cetto, 2015; Méndez, 2006)

## Farmacología.

Se han realizado estudios en los que se ha comprobado la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la corteza, y también se ha estudiado su uso para corregir problemas digestivos (Rain-tree, 2016a).

## Antecedentes fitoquímicos.

**Cuadro 4. Fitoquímica de *C. guatemalensis***

Planta	Fitoquímica
<i>Croton guatemalensis</i> Lotsy “Copalchi”	Alcaloides (copalchidina-corteza), taninos, triterpenos, flavonoides

Cuadro 4. Antecedentes fitoquímicos de *C. guatemalensis* (Méndez, 2006).

**b) *Hamelia patens* Jacq.**

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Orden: Gentianales  
Familia: Rubiaceae  
Subfamilia: Cinchonoideae  
Género: *Hamelia*  
Especie: *Hamelia patens*



Imagen 2. Fotografía de *H. patens* Jacq. (Tomado de Trópicos, 2016b)

Jacq.

Sinonimia: *Duhamelia odorata* Willd. ex Roem. & Schult, *Duhamelia patens* (Jacq.) Pers, *Duhamelia pauciflora* Humb. & Bonpl. ex Schult, *Duhamelia sphaerocarpa* (Ruiz & Pav.) Pers, *Hamelia brachystemon* Wernham, *Hamelia brittoniana* Wernham *Hamelia coccinea* Sw. *Hamelia corymbosa* Sessé & Moc, *Hamelia intermedia* Urb. & Ekman, *Hamelia lanuginosa* M. Martens & Galeotti, *Hamelia nodosa* M. Martens & Galeotti *Hamelia ovata* Wernham, *Hamelia patens* var. *erecta* (Jacq.) DC, *Hamelia patens* var. *glabra* Oerst, *Hamelia patens* var. *quinifolia* DC, *Hamelia pauciflora* Willd, *Hamelia pedicellata* Wernham, *Hamelia sphaerocarpa* Ruiz & Pav, *Hamelia suaveolens* Kunth, *Hamelia tubiflora* Wernham, *Hamelia viridifolia* Wernham (Trópicos, 2016b).

Nombre común: chichipin, madura zapote, mazamora, coralillo, hierba santa cimarrón (Heike, 2009a; Andrade-Cetto, Escandón-Rivera & García-Luna, 2015; Cruz & Andrade Cetto, 2015)

**Hábitat y forma de vida:** arbusto de hasta 3 m de altura. Se puede encontrar a lo largo de los ríos, en climas cálido y semicálido entre los 8 y 1100 msnm. Es una planta asociada a vegetación secundaria de bosques de pino encino, y bosques caducifolios. Habita desde la parte sur de Florida, México, Centro América y Sudamérica hasta

Bolivia **Flores:** inflorescencia en la punta de las ramas, flores rojizas o naranjas dispuestas en las partes terminales, el cáliz acampanado y terminado en 5 diente-cillos triangulares pequeños, la corola tubular, terminada en 5 lóbulos. **Hojas:** elípticas, delgadas de 5 a 23 cm de largo, dispuestas en grupos de 3 a 5 opuestas sobre los tallos. **Frutos:** En racimos de una coloración negra cuando están maduros, carnosos, globosos de hasta 1.3 cm de largo (Trópicos, 2016b; Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2009).

**Usos.**

**Cuadro 5. Usos de *H. patens***

País	Uso
Estados Unidos	Debido a su atractivo visual y su adaptabilidad se ha utilizado como ornamento en algunos jardines del sur de Estado Unidos.
México	La baya madura se utiliza para hacer vino. Mientras que las hojas se usan trituradas para detener sangrados y curar heridas además también se utiliza como tratamiento de la diabetes.
Belice	Las poblaciones indígenas lo utilizan para tratar problemas cutáneos como llagas, heridas, piquetes y quemaduras. También se utiliza para aliviar los cólicos menstruales e infecciones por hongos.
Panamá	Los indios Choco la utilizan para tratar diarreas sanguinolentas, fiebre. En el Noroccidente del Amazonas se utiliza para tratar parasitosis intestinal.
Venezuela	Algunas tribus indígenas utilizan las hojas masticadas para evitar el golpe de calor y bajar la fiebre.
Perú	Las hojas se utilizan para tratar la disentería, fiebres reumatismo y escorbuto.

Brasil	Se usa la raíz como diurético, las hojas se usan para la sarna y los dolores de cabeza.
Cuba	Dolores de cabeza y reumatismo.
Guatemala	Para tratar la disentería, trastornos menstruales, como cataplasma para ayudar a curar heridas, tratar la diabetes.

Cuadro 5. Usos de *H. patens* (Rain-tree, 2016b; Cruz & Andrade-Cetto, 2015; Andrade-Cetto, 2009)

### Farmacología.

Gran parte de la investigación farmacológica se ha centrado en validar los usos tradicionales, por lo que la investigación al respecto ha estado encaminada a evaluar su efecto como analgésico, diurético, anti-inflamatorio, antibacteriano, antifúngico, antitumoral, bactericida e hipoglucemiante (Rain-tree, 2016b; Andrade-Cetto et al., 2015).

### Antecedentes fitoquímicos:

#### Cuadro 6. Fitoquímica de *H. patens*

Planta	Fitoquímica
<i>Hamelia patens</i> Jacq. “Chichipín”	Flavonoides: apigenina, rutina, quercitina, ácido clorogénico  Otros Polifenoles: Ácido rosmarínico.  Alcaloides: efedrina.  Alcaloides oxindólicos: isomaruquina, isopteropodina, maruquina, narirutina, palmirina, pteropodina, rumberina.

	<p>Alcaloides pirrolizidínicos: seneciofilina, speciofilina.</p> <p>En el extracto acuoso y etanol-agua de la parte aérea, se encontró la presencia de ácido cafeico y ácido clorogénico, además de quercitina.</p>
--	---

Cuadro 6. Antecedentes fitoquímicos de *H. patens* (Ahmad et al., 2012; Andrade-Cetto et al., 2015).

c) *Solanum americanum* Mill.

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Orden: Solanales  
Familia: Solanaceae  
Subfamilia: Solanoideae  
Género: *Solanum*  
Especie: *Solanum americanum* Mill



Imagen 3. Fotografía de *S. americanum* Mill. (Tomado de Trópicos, 2016c)

Sinonimia: *Solanum*

*adventitium* Polgar, *Solanum amarantoides* Dunal, *Solanum caribaeum* Dunal, *Solanum curtipes* Bitter, *Solanum depilatum* Bitter, *Solanum ganchouenense* H. Lév., *Solanum gollmeri* Bitter, *Solanum humile* Lam., *Solanum imerinense* Bitter, *Solanum inconspicuum* Bitter, *Solanum indecorum* Rich., *Solanum inops* Dunal, *Solanum minutibaccatum* Bitter, *Solanum nigrum* L., *Solanum nodiflorum* Jacq., *Solanum oleraceum* Dunal, *Solanum parviflorum* Badarò, *Solanum photeinocarpum* Nakam. & Odash., *Solanum pterocaulon* Dunal, *Solanum purpuratum* Bitter, *Solanum quadrangulare* Thunb. ex L. f., *Solanum sciaphilum* Bitter, *Solanum tenellum* Bitter, *Solanum triangulare* Lam (Trópicos, 2016c).

Nombre común: quelite mora, verbena, hoja de zalazar, quilete (Heike, 2009b, Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

**Hábitat y forma de vida:** planta herbácea, erecta o rastrera de hasta 1.5 metros de alto, tallo ramificado con pelos encorvados, habita en selva baja caducifolia, selva alta perennifolia, en dunas costeras y en ocasiones en matorral xerófilo. **Flores:** inflorescencias laterales en forma de umbelas, con pedicelos de hasta 10 mm de largo, flores con cáliz de hasta 2 mm de largo, sus lóbulos presentan el mismo largo que el tubo, corola blanca o ligeramente morada de 4 hasta 7.5 mm de largo, lóbulos triangulares, pubescentes por fuera. **Hojas:** dispuestas en pares siendo una más grande que la otra sobre pedicelos de hasta 3cm de largo, lamina ovalada, hasta 15

cm de largo, acuminada en el ápice, cuneada en la base, generalmente presenta pelos en ambas caras, aunque puede no presentarlos. **Frutos:** de 4 a 8 mm de diámetro, de forma globosa de color negro a la madurez (Trópicos, 2016c; Heike, 2009)

**Usos.**

**Cuadro 7. Usos de *S. americanum***

País	Uso
México	La baya madura se utiliza para hacer vino. Mientras que las hojas se usan trituradas para detener sangrados y curar heridas y tratar la diabetes
Guatemala	Planta comestible utilizada en sopa o caldo, también tiene un uso antidiabético
Otras partes	Antidiabético, anticataléptico, antiasmático Antiinflamatorio, antipirético, purgante

Cuadro 7. Usos de *S. americanum* (Sohrabipour et al., 2014; Frohne et al., 1984; Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

**Farmacología.**

Los estudios farmacológicos publicados hacen énfasis en la actividad antiparasitaria de la planta, antifúngica, antiviral contra herpes (HSV1), larvicida contra larvas de mosquito. Ayuda en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino y antimicrobiano. Además de disminuir la glucosa en ratones hiperglucémicos inducidos con aloxano (Cipollini & Levey, 1997; Ali et al., 1996; Rawani, Ghosh & Chandra, 2010; Rahimi, Shams-Ardekani & Abdollahi, 2010; Malik et al., 2011; Ogundipe et al., 2003)

## Antecedentes fitoquímicos.

**Cuadro 8. Fitoquímica de *S. americanum***

<i>Solanum americanum</i> Mill “Quilete”	Glucoalcaloides como: Solasonina, solasodina, solamargina.  Saponinas agliconas como: Sapogenina  Y antocianinas
---	--

Cuadro 8. Antecedentes fitoquímicos de *Solanum americanum* (Nogueiras et al., 2010; Giorgetti & Negri, 2011).

d) *Neurolaena lobata* (L.) R. Br.

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Orden: Asterales  
Familia: Asteraceae  
Subfamilia: Asteroideae  
Género: *Neurolaena*  
Especie: *Neurolaena Lobata*  
(L.) R. Br.



Sinonimia: *Calea lobata* (L.) Sw., *Calea suriani* Cass., *Conyza lobata* L.,

Imagen 4. Fotografía de *N. lobata* (L.) R. Br. (Tomado de Useful Tropical Plants, 2014)

*Conyza symphytifolia* Mill., *Critonia chrysocephala* (Klatt) R.M. King & H. Rob., *Eupatorium chrysocephalum* Klatt, *Eupatorium valverdeanum* Klatt, *Neurolaena fulva* B.L. Turner, *Neurolaena integrifolia* Cass., *Neurolaena integrifolia* Klatt, *Neurolaena lobata* var. *indivisa* Donn. Sm., *Neurolaena suriani* (Cass.) Cass., *Pluchea symphytifolia* (Mill.) Gillis (Trópicos, 2016d)

Nombre común: tres puntas, mano de lagarto, gavilana (Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

**Hábitat y forma de vida:** hierba o arbusto, tallos erectos de hasta 3 m de alto, habita climas cálido y semicálido ente los 5 y 1200 msnm, se distribuye desde México hasta la parte norte de América del Sur. **Flores:** flores de color amarillo que forman una inflorescencia terminal todo el año. **Hojas:** alternas, divididas en tres, con márgenes dentados y a veces ovalados (Trópicos, 2016d; Encyclopedia of Life, 2016).

## Usos.

**Cuadro 9. Usos de *N. lobata***

País	Uso
México	Se utiliza en el tratamiento de las llagas, antiséptico para tratar heridas, un macerado de las hojas disuelto en agua se utiliza para tratar la disentería y también se emplea para el control de la fertilidad.
Guatemala	Se usa para el tratamiento de la Diabetes
Otras partes	Antiparasitario, antifúngico, antidiabético, cicatrizante Antineoplásica, analgésico, antiulceroso.

Cuadro 9. Usos de *N. lobata* (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2016b; Gupta et al., 1984; Shivanada, 2014; Mckinnon et al., 2014).

## Farmacología.

Existen reportes de ensayos preclínicos donde se comprueba la actividad hipoglucemiante en ratones hiperglucémicos, también se han hecho reportes de su actividad protectora de la mucosa gástrica, reduciendo la cantidad de úlceras, además se ha estudiado su efecto antiparasitario. (Gupta et al., 1984; Gracioso, Hiruma-Lima & Brito, 2000; Cipollini & Levey, 1997; Ali et al., 1996; Rawani et al., 2010; Rahimi et al., 2010; Malik et al., 2011).

## Antecedentes fitoquímicos.

**Cuadro 10. Fitoquímica de *N. lobata***

<i>Neurolaena lobata</i> (L.) R. "Tres puntas"	Saponinas, taninos, triterpenos, alcaloides, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas
--	---

Cuadro 10. Antecedentes fitoquímicos de *N. lobata* (Shivanada, 2014; Mckinnon et al., 2014).

## VII. Materiales y métodos

### a) Extractos

El equipo de trabajo del laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias UNAM, realizó un estudio en Guatemala con comunidades de la etnia Cakchiquel donde se obtuvo una lista de plantas utilizadas por ellos para el tratamiento de la diabetes tipo 2. Posteriormente se comprobó su efecto hipoglucemiante agudo en ratas NA-STZ (Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

Los extractos y las dosis utilizadas en esta tesis son los que obtuvieron un mejor efecto hipoglucemiante en el estudio previamente descrito, los cuales fueron:

- 1.- Extracto etanol-agua de corteza de *C. guatemalensis* a una dosis de 30mg/kg.
- 2.- Extracto acuoso de parte aérea de *H. patens* a una dosis de 36 mg/kg.
- 3.- Extracto acuoso de parte aérea *S. americanum* a una dosis de 62 mg/kg.
- 4.- Extracto acuoso de parte aérea de *N. lobata* a una dosis de 40mg/kg,

### b) Reactivos biológicos

Se usaron ratas de la línea Wistar de entre 200-250 gramos de peso y 2 meses de edad que fueron provistos por el Bioterio de la Facultad de Ciencias UNAM.

Durante el experimento, los animales se mantuvieron a una temperatura de entre 19-22°C con una humedad de entre 50-70% y un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad.

Las ratas fueron alimentadas *ad libitum* con pellets “Purina: Rodent Laboratory Chow 5001” y agua limpia. Los procedimientos experimentales fueron realizados de acuerdo a la NOM 062-200-1999 sobre especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### **c) Medición de glucosa**

Las muestras de sangre necesarias para la medición de glucosa se obtuvieron de la vena caudal, haciendo un pequeño corte en el extremo de la cola de la rata y sacando una gota de sangre.

La medición se realizó con glucómetros ACCUTREND GC Roche® y tiras reactivas.

### **d) Inducción de hiperglucemia**

La STZ se disolvió en buffer de citratos pH 4.5, mientras que la NA se disolvió en solución fisiológica.

Al momento de la inducción primero se inyectó NA a una dosis de 150 mg/kg vía intraperitoneal, 15 minutos después se inyectó STZ a una dosis de 65mg/kg vía intravenosa.

Las ratas se mantuvieron en observación y se monitoreó la glucemia a las 24 horas y a los 7 días después de la inducción. Para este ensayo las ratas que presentaron entre 160 y 200 mg/dl una semana después de ser inducidas se consideraron como hiperglucémicas (Figura 5).



Figura 5. Inducción de hiperglucemia en ratas Wistar mediante el modelo STZ-NA.

#### e) Curvas de tolerancia la maltosa y sacarosa

Se realizaron curvas de tolerancia a maltosa y a sacarosa en ratas diabéticas y no diabéticas (controles).

Con la ayuda de una sonda esofágica, se administró el tratamiento de acuerdo al peso de cada rata (acarbosa o extractos dependiendo del caso) disuelto en 1.5 ml de solución fisiológica (NaCl 0.9%), pasados 5 minutos se administró una solución de maltosa o sacarosa (según fuese el caso) a una dosis de 3 g/kg de peso corporal.

Se midió la glucosa durante los tiempos 0, 30, 60 y 90 min después de la administración del tratamiento, tomando en cuenta que el tiempo 0 se midió antes de administrar cualquier tratamiento.

Las dosis de los extractos analizados se explican en el cuadro 11.

**Cuadro 11. Grupos experimentales**

GRUPO EXPERIMENTAL.	TRATAMIENTO
1-Control no hiperglucémico (CN).	Sol. Maltosa 3 g/kg (o sacarosa 2 g/kg)
2-Control hiperglucémico (CH).	Sol. Maltosa 3 g/kg (o sacarosa 2 g/kg)
3-Control hiperglucémico con acarbosa (CHA)	Acarbosa 3 mg/Kg + Sol. Maltosa 3 g/Kg (o sacarosa 2 g/kg).
4- Hiperglucémico con <i>C. guatemalensis</i> .	Extracto etanol-agua de corteza a una dosis de 30mg/kg + Sol. Maltosa 3 g/kg (o sacarosa 2 g/kg).
5- Hiperglucémico con <i>H. patens</i> .	Extracto acuoso de parte aérea a una dosis de 36 mg/kg + Sol. Maltosa 3 g/kg (o sacarosa 2 g/kg).
6- Hiperglucémico con <i>S. americanum</i> .	Extracto acuoso de parte aérea a una dosis de 62 mg/kg + Sol. Maltosa 3 g/kg (o sacarosa 2 g/kg).
7- Hiperglucémico con <i>N. lobata</i> .	Extracto acuoso de parte aérea a una dosis de 40mg/kg + Sol. Maltosa 3 g/kg (o sacarosa 2 g/kg).

Cuadro 11. Grupos experimentales y su tratamiento cabe señalar que se realizaron curvas de tolerancia de sacarosa y de maltosa de manera independiente

**f) Obtención de extracto liofilizado de intestino de rata**

Las alfa-glucosidasas de intestino de rata se obtuvieron de acuerdo a la metodología descrita por Nishioka, Kawabata & Aoyama, (1998) con modificaciones.

Se disecó el intestino delgado de tres ratas Wistar adultas, se seccionó en varios fragmentos, teniendo cuidado de mantenerlo siempre a una temperatura de 4°C. Se lavó el interior con solución fisiológica para eliminar el exceso de materia fecal.

A continuación, se extrajo la mucosa intestinal, colocando cada segmento en un rectángulo de vidrio recostado en una cama de hielo y raspando moderadamente a lo largo del segmento con la ayuda de una espátula, de tal manera que se obtuviera la mucosa intestinal, la cual se colectó y se homogenizó con buffer de fosfato de potasio 0.1M con EDTA 5mM, pH7.

Posteriormente, se centrifugó a 21, 000 g por 60 min a 4°C, se recuperó el precipitado y se resuspendió en el mismo buffer de fosfatos adicionando 1% de Triton X-100.

Enseguida se centrifugó a 110, 000 g por 90 minutos más a 4°C.

El sobrenadante se colocó en una membrana de diálisis contra buffer de fosfato 0.01M por 24 horas, cambiando la solución a las 3 y a las 16 horas.

El dializado se ultracongeló a -40°C y se liofilizó durante 24 horas.

**g) Ensayo *in vitro* para medir actividad de alfa-glucosidasas.**

Se determinó la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas provenientes de *Saccharomyces cerevisiae* (SIGMA ® G5003-1KU) y de intestino de rata.

El ensayo se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Oki, Matsui & Osajima (1999) con modificaciones.

La actividad de las alfa-glucosidasas en este modelo se determinó mediante la medición del p-nitrofenol liberado a partir del p-Nitrofenol alfa-D-glucopiranosido (4-NPGP), en un buffer de fosfatos 0.1M y pH 6.8.

Para estas pruebas se utilizaron los extractos ensayados en el experimento *in vivo* y el fármaco acarbosa (como control positivo) suspendidos en el buffer de fosfatos, de tal manera que los extractos dieron concentraciones que fueron desde 20 hasta 1000 µg/ml de ensayo.

El ensayo se realizó por triplicado en microplacas de 96 pozos, la absorbancia fue medida en un lector de microplacas Elx800 (Bio Tek). Las mediciones se efectuaron a 405nm incubándose por 8 minutos, tomando medidas cada 30 segundos.

La actividad enzimática se determina a partir de la  $\Delta$  absorbancia/minuto. La IC50 fue calculada por el método gráfico.

#### **h) Análisis estadístico**

Para el caso de las curvas de tolerancia a la maltosa y sacarosa se realizó un análisis estadístico de los datos de la curva de tolerancia a la maltosa con una prueba de ANOVA, y se aplicó un *post-hoc* de Fisher para comparar los niveles de glucemia en sangre los valores se consideraron estadísticamente significativos con una  $p \leq 0.05$ .

## VIII. Resultados.

- Curvas de Tolerancia a la maltosa.

Los resultados de las curvas de tolerancia a la maltosa se exponen en la tabla 11. En donde se tienen que:

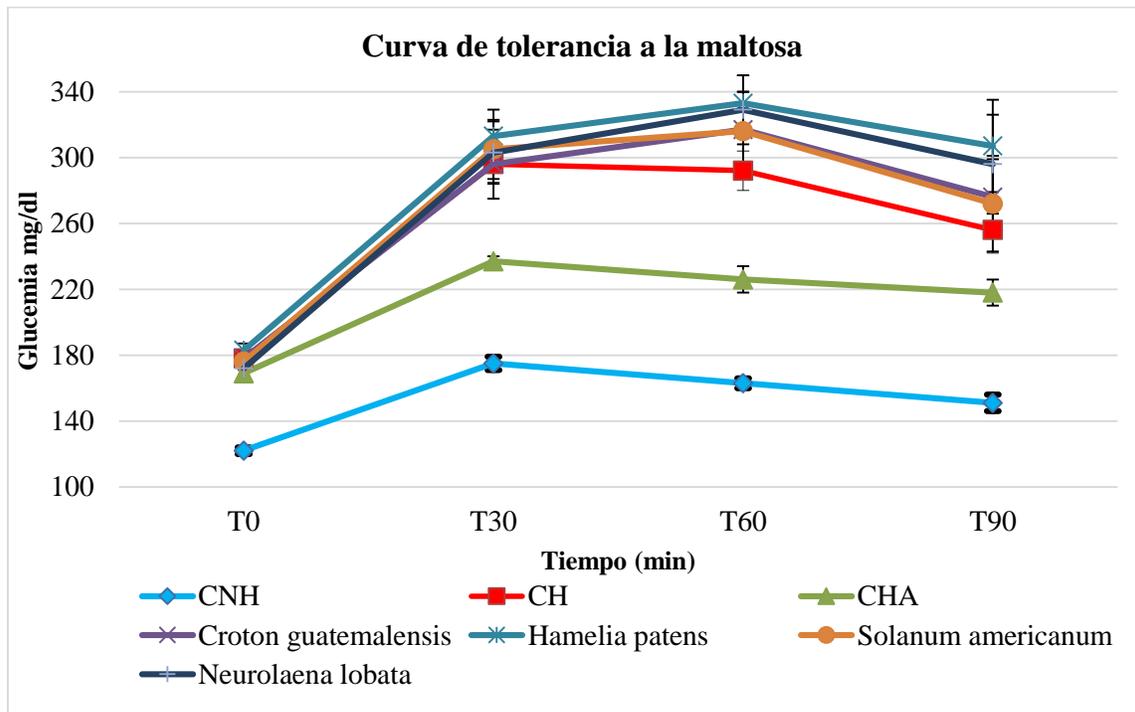
1. En todos los tratamientos las medias de glucosa sanguínea resultaron significativamente diferentes con respecto a su tiempo 0. Se observa un pico hiperglucémico a partir del tiempo 30 (gráfica 1).
2. Al comparar el grupo control no hiperglucémico contra el control hiperglucémico, se encontraron diferencias significativas a partir del tiempo 0.

**Cuadro 12. Promedio de los valores de glucosa  $\pm$  ES**

GRUPO/TIEMPO (min.)	Media de glucosa [mg/dl] $\pm$ error estándar en curva de tolerancia a la maltosa			
	T0	T30	T60	T90
1- Control no hiperglucémico (CNH)	122 $\pm$ 2	175 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	163 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	151 $\pm$ 5 <sup>a</sup>
2- Control hiperglucémico (CH)	178 $\pm$ 5	296 $\pm$ 10 <sup>a,c</sup>	292 $\pm$ 12 <sup>a,c</sup>	256 $\pm$ 14 <sup>a,c</sup>
3- Control hiperglucémico con acarbosa (CHA)	170 $\pm$ 2	231 $\pm$ 5 <sup>a,b</sup>	229 $\pm$ 8 <sup>a,b</sup>	219 $\pm$ 8 <sup>a,b</sup>
4- Hiperglucémico con <i>C. guatemalensis</i>	178 $\pm$ 3	296 $\pm$ 21 <sup>a</sup>	317 $\pm$ 23 <sup>a</sup>	276 $\pm$ 23 <sup>a</sup>
5- Hiperglucémico con <i>H. patens</i>	183 $\pm$ 4	313 $\pm$ 16 <sup>a</sup>	333 $\pm$ 17 <sup>a</sup>	307 $\pm$ 28 <sup>a</sup>
6- Hiperglucémico con <i>S. americanum</i> .	176 $\pm$ 4	305 $\pm$ 18 <sup>a</sup>	316 $\pm$ 24 <sup>a</sup>	272 $\pm$ 29 <sup>a</sup>
7- Hiperglucémico con <i>N. lobata</i>	172 $\pm$ 6	303 $\pm$ 19 <sup>a</sup>	329 $\pm$ 21 <sup>a</sup>	296 $\pm$ 30 <sup>a</sup>

Cuadro 12. Donde “a” muestra diferencias significativas con el tiempo 0 del tratamiento; “b” muestra diferencias significativas con el control hiperglucémico en el tiempo de la muestra, “c” muestra diferencias significativas con el control no hiperglucémico en el tiempo de la muestra. Se utilizó una n=9, los valores se consideraron estadísticamente significativos con una  $p \leq 0.05$ .

3. Al comparar el grupo control hiperglucémico contra el control hiperglucémico con acarbosa muestran diferencias significativas en los tiempos 30, 60 y 90 minutos.
4. No hubo diferencias significativas en ningún tiempo al comparar el grupo control hiperglucémico con los grupos que recibieron los extractos de las cuatro plantas evaluadas.



Gráfica 1. Curvas de tolerancia a la maltosa.

- Curvas de tolerancia a la sacarosa.

Los resultados de las curvas de tolerancia a la sacarosa se explican en la Tabla 12. En donde se tienen que:

1. En el grupo control hiperglucémico con acarbosa, las medias de glucosa sanguínea no resultaron significativamente diferentes con respecto a su tiempo 0, lo que indica que se impidió el pico hiperglucémico en la curva de tolerancia a la sacarosa (Gráfica 2), mientras que al compararlo con el control hiperglucémico, resultó significativamente diferente en los tiempos 30 y 60 minutos.

2. En el grupo con *C. guatemalensis*, las medias de glucosa sanguínea resultaron significativamente diferentes con respecto a su tiempo 0 en el tiempo 30 y 60 minutos, mientras que al compararlo con el control hiperglucémico, no resultó significativamente diferente.
3. En el grupo con *H. patens*, las medias de glucosa sanguínea resultaron significativamente diferentes con respecto a su tiempo 0 en los tiempos 30, y 60 minutos, mientras que, al compararlo con el control diabético, resultó significativamente diferente en el tiempo 30 minutos.

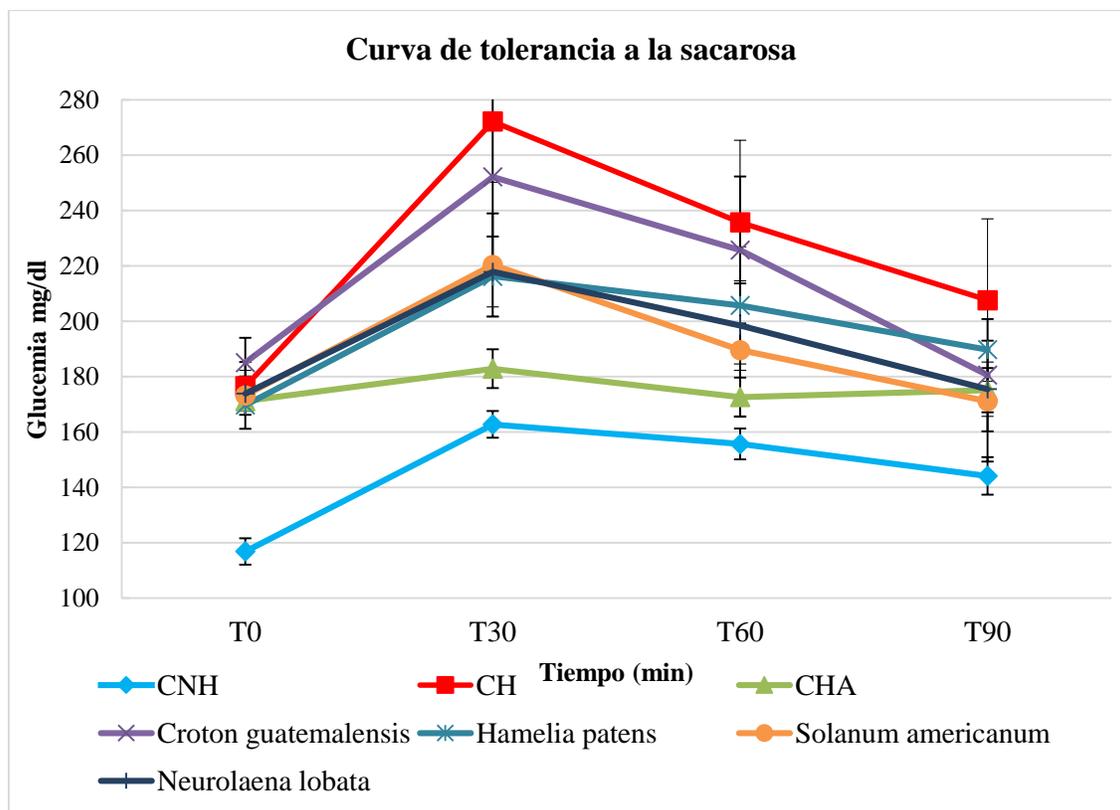
**Cuadro 13. Promedio de los valores de glucosa ± ES**

GRUPO/TIEMPO (min.)	Media de glucosa [mg/dl] ± error estándar en curva de tolerancia a la sacarosa.			
	T0	T30	T60	T90
1- Control no hiperglucémico (CNH)	117±5	163±5 <sup>a</sup>	156±6 <sup>a</sup>	144±7 <sup>a</sup>
2- Control hiperglucémico (CH)	177±6	272±22 <sup>a</sup>	236±30 <sup>a</sup>	208±29
3- Control hiperglucémico con acarbosa (CHA)	171±5	183±7 <sup>b</sup>	173±7 <sup>b</sup>	175±8
4- Hiperglucémico con <i>Croton guatemalensis</i>	185±9	252±30 <sup>a</sup>	226±27 <sup>a</sup>	181±20
5- Hiperglucémico con <i>Hamelia patens</i>	170±2	216±15 <sup>a,b</sup>	206±21 <sup>a</sup>	190±21
6- Hiperglucémico con <i>Solanum americanum</i> .	173±12	220±19 <sup>a,b</sup>	190±24	171±22
7- Hiperglucémico con <i>Neurolaena lobata</i>	174±6	218±13 <sup>a,b</sup>	199±16	176±10

Cuadro 13. Donde “a” muestra diferencias significativas con el Tiempo 0 del tratamiento; “b” muestra diferencias significativas con el control hiperglucémico en el tiempo de la muestra, “c” muestra diferencias significativas con el control no hiperglucémico en el tiempo de la muestra. Se utilizó una n=9, los valores se consideraron estadísticamente significativos con una  $p \leq 0.05$ .

4. En el grupo con, *S.* y *N. lobata* las medias de glucosa sanguínea resultaron significativamente diferentes con respecto a su tiempo 0 en el tiempo 30 minutos,

mientras que al compararlo con el control hiperglucémico, resultó significativamente diferente en el tiempo 30 minutos.

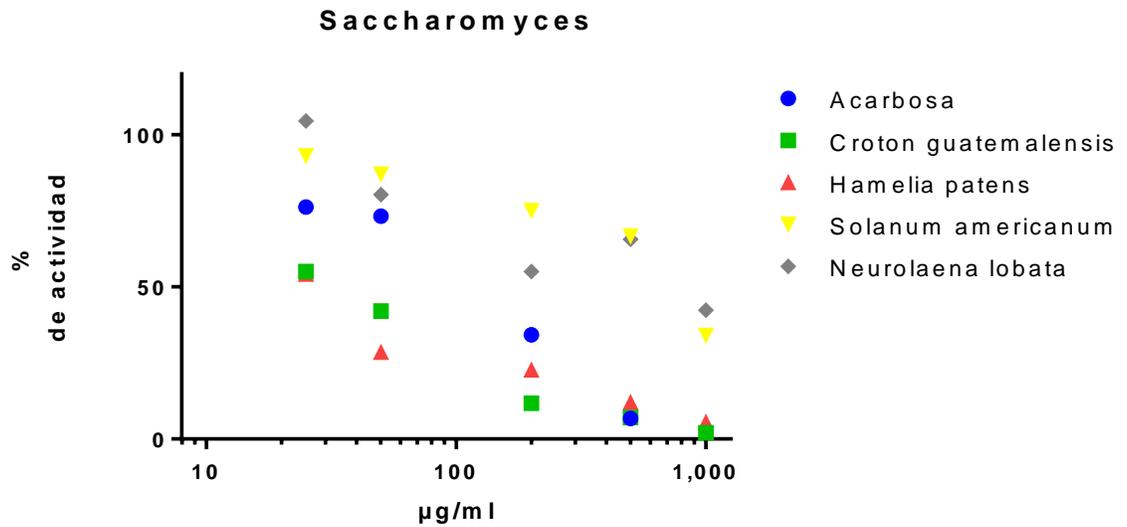


Gráfica 2. Curvas de tolerancia a la sacarosa.

- Efecto *in vitro* de los extractos de las plantas evaluadas sobre alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae*.

Los resultados se muestran en porcentaje de actividad (Gráfica 3). Se probaron las siguientes concentraciones: 0, 25, 50, 200, 500 y 1000  $\mu\text{g/ml}$  de cada uno de los extractos. Se utilizó el fármaco acarbosa como control positivo.

Se obtuvo que acarbosa y todos los extractos tuvieron un efecto inhibitorio mayor a 50 por ciento, por lo que se calculó su  $\text{IC}_{50}$  (Tabla 13).



Gráfica 3. Efecto de los extractos de *C. guatemalensis*, *H. patens*, *S. americanum*, y *N. lobata* sobre las alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae*. Se utilizó el fármaco acarbosa como control positivo

Se calculó la IC<sub>50</sub> para cada tratamiento (Cuadro 14) mediante el método gráfico, en donde cabe resaltar que tanto *Croton guatemalensis* como *Hamelia patens*, presentan una IC<sub>50</sub> menor a la del fármaco acarbosa utilizado como control positivo.

**Cuadro 14. IC<sub>50</sub> para cada tratamiento**

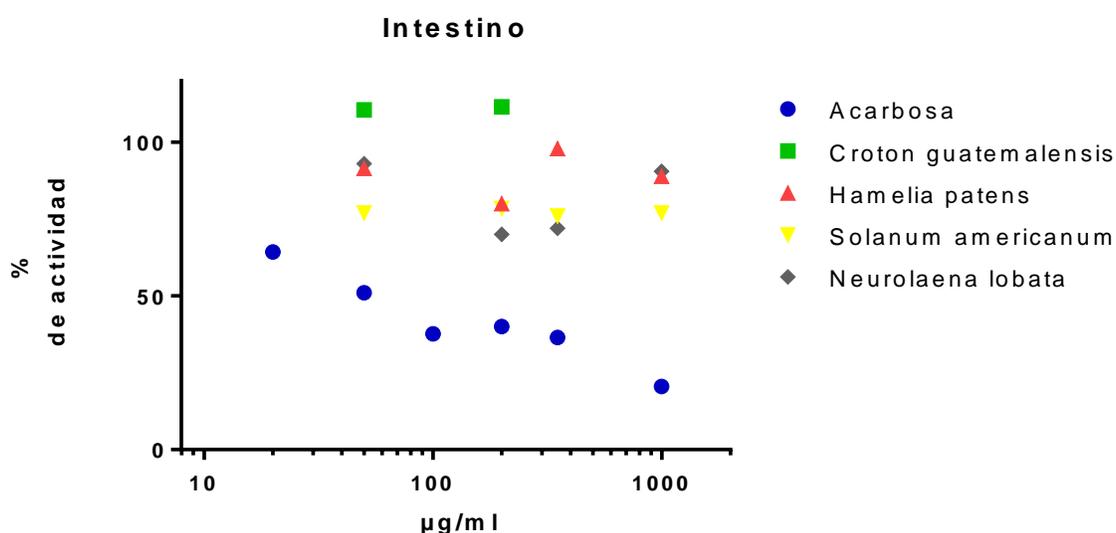
Tratamiento	IC <sub>50</sub> µg/ml
Control con fármaco (Acarbosa)	105
<i>Croton guatemalensis</i>	32
<i>Hamelia patens</i>	31
<i>Solanum americanum</i>	843
<i>Neurolaena lobata</i>	886

Cuadro 14. IC<sub>50</sub> para el fármaco acarbosa, el extracto de *Croton guatemalensis*, *Hamelia patens*, *Solanum americanum* y *Neurolaena lobata*.

- Efecto *in vitro* de los extractos de las plantas evaluadas sobre alfa-glucosidasas de intestino de rata.

Se realizó un estudio para determinar la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas provenientes de intestino de rata, los resultados se muestran en porcentaje de actividad (Gráfica 4). Se probaron diferentes concentraciones (0, 25, 50, 200, 500 y 1000 µg/ml) de cada uno de los extractos probados en este trabajo, y se utilizó el fármaco acarbosa como control positivo, cada se ensayó se realizó por triplicado. Los resultados se presentan en porcentaje de actividad.

Se obtuvo que sólo la acarbosa presentó un porcentaje de inhibición mayor al 50 por ciento, por lo que se calculó su IC<sub>50</sub>.



Gráfica 4. Efecto de los extractos de *C. guatemalensis*, *H. patens*, *S. americanum*, y *N. lobata* sobre las alfa-glucosidasas de intestino de rata. Se utilizó el fármaco acarbosa como control positivo

Se calculó la IC<sub>50</sub> para acarbosa (Cuadro 15) mediante el método gráfico.

**Cuadro 15. IC<sub>50</sub> para acarbosa**

Tratamiento	IC <sub>50</sub> µg/ml
Control con fármaco (Acarbosa)	77

Cuadro 15. IC<sub>50</sub> para el fármaco acarbosa

## IX. Discusión.

Los inhibidores de alfa-glucosidasas como la acarbosa, el miglitol y la voglibosa son fármacos que se utilizan en el tratamiento de la diabetes tipo 2 para reducir la hiperglucemia postprandial inhibiendo la absorción de glucosa a nivel intestinal. Hoy en día existe un creciente interés en la búsqueda de nuevas moléculas sintéticas o de origen natural que puedan ser candidatos para la creación de fármacos más selectivos y potentes (Wardrop & Waidyarachchi, 2010; Escandón-Rivera, 2013).

En este trabajo se evaluó el efecto de los extractos de cuatro plantas utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes, sobre la inhibición de las enzimas alfa-glucosidasas en un modelo *in vivo* utilizando curvas de tolerancia a maltosa y sacarosa e *in vitro* utilizando enzimas de *Saccharomyces cerevisiae* y de intestino de rata.

Los resultados obtenidos en la curva de tolerancia a la maltosa (Cuadro 12), muestran que existe un aumento estadísticamente significativo en la glucosa sanguínea a partir del tiempo 30 min debido al desdoblamiento y absorción de la maltosa administrada. Ninguna de las plantas evaluadas en este estudio tuvo como efecto una disminución en el pico hiperglucémico postprandial, lo que indica que los extractos administrados no ralentizan la digestión de este disacárido; Sin embargo, todos los extractos presentaron una disminución en la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* en un modelo *in vitro* (Gráfica 3). Los extractos *Croton guatemalensis* y *Hamelia patens* tuvieron una IC50 menor que acarbosa (Cuadro 14).

La literatura dice que las alfa-glucosidasas de levadura y de mamífero pertenecen a dos distintas familias que difieren en su secuencia de aminoácidos y en la capacidad para actuar sobre distintos sustratos, de tal manera que las enzimas de levadura pertenecen a la familia I (GH13) a la cual también corresponden las enzimas provenientes de insectos y presentan mayor afinidad a sustratos heterogéneos como la sacarosa o el 4-PNGP, mientras que las alfa-glucosidasas provenientes de mamíferos pertenecen a la familia II (GH31) tienen mayor afinidad a sustratos homogéneos como la maltosa, por lo que los resultados indican que los extractos inhiben sólo a las enzimas de la familia I (Kimura, 2000; Kimura et al., 2004).

Dado que en las curvas de tolerancia se utilizó maltosa que es un sustrato homogéneo, se decidió realizar curvas de tolerancia con un sustrato heterogéneo que en este caso fue la

sacarosa, en donde se obtuvieron diferencias significativas en comparación con el control hiperglucémico en el caso de *Hamelia patens*, *Solanum americanum* y *Neurolaena lobata*, por lo que los extractos de estas tres plantas disminuyeron el pico hiperglucémico postprandial en el tiempo 30 min. (Cuadro 13).

El efecto señalado podría estar dado al menos en parte por la inhibición de alfa-glucosidasas que degradan sacarosa que es un sustrato heterogéneo, que en el caso del intestino de rata es el complejo isomaltasa-sacarasa, (Caspary, 1992).

Sin embargo, en el caso de *Hamelia patens* sus antecedentes fitoquímicos y farmacológicos indican la presencia de metabolitos secundarios relacionados con el efecto hipoglucemiante de la planta, tal es el caso del ácido clorogénico que disminuye la gluconeogénesis y la glucogenólisis a través de la inhibición de la enzima glucosa-6-fosfatasa que es un intermediario enzimático de estas dos vías. Además, se ha encontrado que aumenta la captación de glucosa por parte del músculo esquelético, mediante la activación de la AMPK, aumentando la traslocación de GLUT 4 disminuyendo así la resistencia a la insulina. Así mismo se ha comprobado que la quercitina aumenta la secreción de la insulina, y protege a las células  $\beta$  del páncreas contra estrés oxidativo, y el ácido caféico presenta un efecto hipoglucemiante inhibiendo a las enzimas alfa-glucosidasas y alfa-amilasas (García-Luna, 2016; Andrade Cetto, et al., 2015).

Por lo tanto, el efecto del extracto de *Hamelia patens* sobre la curva de tolerancia a la sacarosa, podría estar dado por alguno de estos mecanismos, sin embargo, es necesario realizar el perfil fitoquímico del extracto utilizado para poder comprobar la presencia de estos compuestos.

En el caso de *Solanum americanum*, los antecedentes fitoquímicos indican que en esta planta se ha reportado la presencia de los glucoalcaloides solasonina y solamargina, que son comunes en el género *Solanum* y de los cuales se han realizado estudios en donde se comprobó su efecto hipoglucemiante inhibiendo el pico hiperglucémico en una curva de tolerancia a la sacarosa, mediante la supresión del vaciado gástrico del estómago hacia el intestino delgado (Yoshikawa et al., 2007).

De esta manera se propone que la supresión del vaciado gástrico pudo haber sido uno de los mecanismos mediante los cuales esta planta disminuyó el pico hiperglucémico postprandial, sin embargo, es necesario comprobar si el extracto utilizado contiene estos metabolitos

En el caso de *Neurolaena lobata*, aunque existe un antecedente farmacológico en el cual se comprueba el efecto hipoglucémico en ratones hiperglucémicos con aloxan, no se ha podido determinar cuáles son sus mecanismos de acción (Gupta et al., 1984).

Por otra parte, se realizó un ensayo *in vitro*, para evaluar el efecto de los extractos sobre la actividad de las alfa-glucosidasas de intestino de rata, en donde se obtuvo que solo acarbosa disminuyó en más de un 50 % la actividad de estas enzimas (Gráfica 4), y en el caso de las plantas ningún extracto logró disminuir su actividad, esto contrasta con los resultados obtenidos con las enzimas de levadura (Cuadro 15).

Con base en la experiencia del grupo de trabajo del laboratorio de Etnofarmacología y haciendo una búsqueda en la literatura, se ha encontrado que en ocasiones cuando se evalúa los efectos de distintas moléculas o extractos de plantas que pueden potencialmente inhibir a las alfa-glucosidasas los resultados obtenidos puede llegar a variar de manera importante dependiendo del tipo de enzima utilizada. Por lo general en estos ensayos se usa alfa-glucosidasas del tipo 1 que provienen de *Saccharomyces cerevisiae* y de tipo 2 de intestino de mamífero que provienen de rata o cerdo. Se ha observado que cuando una molécula inhibe un tipo de enzima, generalmente las de tipo 1 no actúa de la misma manera con enzimas de diferente naturaleza como son las de tipo 2 (Sato et al., 2001; Pérez-Tenorio, 2016).

Las enzimas provenientes de intestino de mamífero, no están completamente purificadas, por lo que pueden presentar diversos constituyentes proteicos como la albumina y globulinas que forman parte de los componentes del plasma y que generalmente no se encuentran en el lumen intestinal en un ser vivo, al respecto algunos autores proponen que estas proteínas interactúan con las moléculas inhibitoras evitando así que puedan relacionarse con las alfa-glucosidasas protegiendo así a las enzimas de la acción del inhibidor (Sato et al., 2001; Pérez-Tenorio, 2016)

Una metodología sencilla mediante la cual se puede comprobar si las proteínas plasmáticas interactúan con el inhibidor protegiendo a las alfa-glucosidasas, se centra en añadir albúmina al ensayo con alfa-glucosidasas de levadura, para poder examinar si esta proteína interfiere

con la capacidad inhibitoria que presentan los extractos con este tipo de enzima (Sato et al., 2001).

Como parte de la experiencia obtenida en la realización de esta tesis, se propone que, en futuros trabajos, cuando se quiera analizar el efecto de algún extracto o molécula sobre la inhibición de alfa-glucosidasas con la finalidad de buscar nuevos fármacos para el control de la diabetes, no se utilice enzimas provenientes de *Saccharomyces cerevisiae*, ya que estas enzimas son de naturaleza diferente a las encontradas en el intestino de mamíferos, y los resultados obtenidos pueden ser poco fiables.

La disminución en la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* que presentaron los extractos de *Croton guatemalensis* y *Hamelia patens* (Gráfica 3), este hecho puede tener relevancia ecológica en favor de las plantas, debido a que estas enzimas pertenecen a la familia 1 de la cual también son parte las alfa-glucosidasas presentes en el tracto digestivo y la saliva de los insectos, de tal manera que es posible que estas plantas presenten compuestos que inhiban a este tipo específico de enzima como parte de sus mecanismo de defensa en contra de depredadores. Para poder comprobar lo anterior se propone realizar un ensayo *in vitro* utilizando enzimas provenientes de insectos (Ramzi & Hosseininaveh, 2010; Kimura et al., 2004).

## X. Conclusiones

- Los extractos probados en este trabajo, no disminuyen el pico hiperglucémico en una curva de tolerancia a la maltosa.
- Los extractos de *Hamelia patens*, *Solanum americanum* y *Neurolaena lobata* disminuyen el pico hiperglucémico en el tiempo 30 min en una curva de tolerancia a la sacarosa.
- Todos los extractos probados en este trabajo disminuyen la actividad de las alfa-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae* en un ensayo *in vitro*.
- Los extractos no disminuyen la actividad de las enzimas las alfa-glucosidasas de extracto liofilizado de intestino de rata.
- Los extractos ensayados inhiben la actividad de las enzimas alfa-glucosidasas de tipo 1.

## XI. Literatura citada.

- American Diabetes Association. (2013). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care* 36(1), S67-S74.
- American Diabetes Association. (2015). Standards of medical care in diabetes-2015 abridged for primary care providers. *Clinical diabetes: a publication of the American Diabetes Association*, 33(2), 97-111.
- Ahmad, A., Pandurangan, A., Singh, N., & Ananad, P. (2012). A mini review on chemistry and biology of *Hamelia Patens* (Rubiaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(29), 1-4.
- Ali, A. M., Mackeen, M. M., El-Sharkawy, S. H., Abdul Hamid, J., Ismail, N. H., Ahmad, F., & Lajis, M. N. (1996). Antiviral and cytotoxic activities of some plants used in Malaysian indigenous medicine. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 19(2/3), 129-136.
- Álvarez, C. G., & Jackson, G. M. (2014). Las hormonas incretinas y su relación con la diabetes. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 71(612), 629-635.
- Andrade-Cetto, A., Escandón-Rivera, S., & García-Luna, V. (2015). Hypoglycemic effect of *Hamelia patens* jacq., aerial part in STZ-NA-induced diabetic rats. *Pharmacology Online*. 3, 65-69.
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325-348.
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2011). From the field into the lab: useful approaches to selecting species based on local knowledge. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 20.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009a). *Hamelia patens*. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: [http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Hamelia\\_patens&id=7013](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Hamelia_patens&id=7013).
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009b). *Solanum americanum*. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7026>.
- Borges de Melo, E. B., da Silveira Gomes, A., & Carvalho, I. (2006).  $\alpha$ - and  $\beta$ -Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62(44), 10277-10302.
- Brzozowski, A. M., & Davies, G. J. (1997). Structure of the *Aspergillus oryzae*  $\alpha$ -amylase complexed with the inhibitor acarbose at 2.0 Å resolution. *Biochemistry*, 36(36), 10837-10845.

- Carbohidrate-Active Enzyme. (2016). Glycoside Hydrolase family classification. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html>.
- Carlini, C. R., & Grossi-de-Sá, M. F. (2002). Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon*, 40(11), 1515-1539.
- Caspary, W. F. (1992). Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(1), 299S-308S.
- Castrejón, V., Carbó, R., & Martínez, M. (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa. *REB*, 26(2), 49-57.
- Cervera Peris, M., & Crespi Monjo, M. (2010). Tratamiento farmacológico de la diabetes, de la obesidad y de otros componentes del síndrome metabólico. *Nutrición Hospitalaria Suplementos*, 3(1), 72-82.
- Chen, L., Magliano, D. J., & Zimmet, P. Z. (2012). The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(4), 228-236.
- Cipollini, M. L., & Levey, D. J. (1997). Antifungal activity of *Solanum* fruit glycoalkaloids: implications for frugivory and seed dispersal. *Ecology*, 78(3), 799-809.
- Clissold, S. P., & Edwards, C. (1988). Acarbose. *Drugs*, 35(3), 214-243.
- Cruz, E. C., y Andrade-Cetto, A. (2015). Ethnopharmacological field study of the plants used to treat type 2 diabetes among the Cakchiquels in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 159, 238-244.
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., ... & Simonson, D. C. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews Disease primers*, 1, 15019.
- Enciclovida (2016a). Algodoncillo (*Croton guatemalensis*). Recuperado en octubre de 2016, a partir de: <http://enciclovida.mx/especies/148804-croton-guatemalensis>.
- Encyclopedia of Life. (2016). *Neurolaena lobata*. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://eol.org/pages/503028/overview>
- Escandón-Rivera, S. (2013). Efectos hipoglucemiantes y antihiper glucémicos de reparados y compuestos de la especie *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray. (Asteraceae). (Tesis de doctorado). Facultad de Química, UNAM. 104 pp.
- Etuk, E. U. (2010). Animal models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am*, 1(2), 130-134.
- Fleming, B. B., Greenfield, S., Engelgau, M. M., Pogach, L. M., Clauser, S. B., & Parrott, M. A. (2001). The Diabetes Quality Improvement Project Moving science into health policy to gain an edge on the diabetes epidemic. *Diabetes care*, 24(10), 1815-1820.

- Fowler, M. J. (2008). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical diabetes*, 26(2), 77-82.
- Frohne, D., Pfänder, H. J., Bisset, N. G., & Wassermann, O. (1984). A colour atlas of poisonous plants: a handbook for pharmacists, doctor's toxicologist and biologists. *Wolfe Publishing*. London, 10-222
- García-Luna, P. P., & López-Gallardo, G. (2007). Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutrición Hospitalaria*, 22, 05-13.
- García-Luna, V. (2016). Estudio del efecto hipoglucemiante de la parte aérea de *Hamelia patens* Jacq. En ratas con hiperglucemia inducida STZ-NA. (Tesis de licenciatura). Facultad de Ciencias, UNAM. 55 pp.
- Giorgetti, M., & Negri, G. (2011). Plants from Solanaceae family with possible anxiolytic effect reported on 19th century's Brazilian medical journal. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(4), 772-780.
- Gilani, AH (2005). Tendencias en Etnofarmacología. *Diario de Etnofarmacología*. 100 (1). 43-49.
- Gómez, M. R., & Rodríguez, A. (2012). Mecanismos de defensa y respuestas de las plantas en la interacción micorrízica: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 271-284.
- Gracioso, J. S., Hiruma-Lima, C. A., & Brito, A. S. (2000). Antiulcerogenic effect of a hydroalcoholic extract and its organic fractions of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. *Phytomedicine*, 7(4), 283-289.
- Grieve, M. (2016). A Modern Herbal, Cascarilla. Recuperado en octubre de 2016, a partir de: <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/c/cascar28.html>.
- Guerra, J. A. C., (2015). Erradicación de diabetes en Guatemala: Un sueño posible. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 2(1), 75-83.
- Gupta, M. P., Solis, N. G., Avella, M. E., & Sanchez, C. (1984). Hypoglycemic activity of *Neurolaena lobata* (L.) R. BR. *Journal of ethnopharmacology*, 10(3), 323-327.
- Heike V. (2009a). Malezas de México, *Hamelia patens* Jacq. Recuperado en octubre de 2016, a partir de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/rubiaceae/hamelia-patens/fichas/ficha.htm>.
- Heike V. (2009b). Malezas de México, *Solanum americanum* Mill. Recuperado en octubre de 2016 a partir de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/rubiaceae/hamelia-patens/fichas/ficha.htm>.
- Henriette's-herb. (2016). Cascarilla (U. S. P.) Cascarilla. Recuperado en octubre de 2016, a partir de: <http://www.henriettes-herb.com/eclectic/kings/croton-elut.html>.

- Herrera, J. M. H. (2008). Uso de las tiazolidinedionas en pacientes diabéticos tipo 2. (Revisión bibliográfica). *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 65(582), 53-58.
- Iniciativa Centroamericana de Diabetes. (2010). Encuesta de diabetes, hipertensión y factores de riesgo de enfermedades crónicas. International Diabetes Federation.
- International Diabetes Federation. (2017). Diabetes Atlas (8<sup>a</sup> ed.) International Diabetes Federation. Recuperado en marzo de 2018 a partir de: <http://fmdiabetes.org/wp-content/uploads/2018/03/IDF-2017.pdf>.
- International Diabetes Federation. (2015). Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: estimates for the year 2013. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 109(3): 461-465.
- Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., ... & Matthews, D. R. (2015). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 38(1), 140-149.
- Kimura, A. (2000). Molecular anatomy of  $\alpha$ -glucosidase. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 12(68), 373-380.
- Kimura, A., Lee, J. H., Lee, I. S., Lee, H. S., Park, K. H., Chiba, S., & Kim, D. (2004). Two potent competitive inhibitors discriminating  $\alpha$ -glucosidase family I from family II. *Carbohydrate research*, 339(6), 1035-1040.
- Langman, J. M., & Rowland, R. (1990). Activity of duodenal disaccharidases in relation to normal and abnormal mucosal morphology. *Journal of clinical pathology*, 43(7), 537-540.
- Lee, B. H., & Hamaker, B. R. (2016). Number of branch points in  $\alpha$ -limit dextrans impact glucose generation rates by mammalian mucosal  $\alpha$ -glucosidases. *Carbohydrate Polymers*, 157, 207-213.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216-226.
- Leon Levy Native Plant Preserve (2018). - Plant Listings - *Croton eluteria*. Recuperado en octubre de 2016, a partir de: <http://www.levypreserve.org/Plant-Listings/Croton-eluteria>.
- Lillelund, V. H., Jensen, H. H., Liang, X., & Bols, M. (2002). Recent developments of transition-state analogue glycosidase inhibitors of non-natural product origin. *Chemical reviews*, 102(2), 515-554.
- Lozano, R., Gómez-Dantés, H., Garrido-Latorre, F., Jiménez-Corona, A., Campuzano-Rincón, J. C., Franco-Marina, F., ... & Vos, T. (2013). La carga de enfermedad, lesiones, factores de riesgo y desafíos para el sistema de salud en México. *Salud Pública de México*, 55(6), 580-594.

- Malik, F., Hussain, S., Mirza, T., Hameed, A., Ahmad, S., Riaz, H., ... & Usmanghani, K. (2011). Screening for antimicrobial activity of thirty-three medicinal plants used in the traditional system of medicine in Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), 3052-3060.
- Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., ... & Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229.
- McKinnon, R., Binder, M., Zupkó, I., Afonyushkin, T., Lajter, I., Vasas, A., ... & Frisch, R. (2014). Pharmacological insight into the anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass. *Phytomedicine*, 21(12), 1695-1701.
- Méndez L. I. (2006). Validación farmacológica de la actividad analgésica de las infusiones de la corteza *Spondias purpurea* L.(Jocote), hojas de *Chyranthodendron pentadactylon* (Manita) y *Croton gautemalensis* (Copalchi). (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. 58 pp.
- Mexicana, N. O. (1999). NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2015). Análisis de la situación Epidemiológica de enfermedades no transmisibles Guatemala 2015. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- Mury, F. B., da Silva, J. R., Ferreira, L. S., dos Santos Ferreira, B., de Souza-Filho, G. A., de Souza-Neto, J. A., ... & Berbert-Molina, M. A. (2009). Alpha-glucosidase promotes hemozoin formation in a blood-sucking bug: an evolutionary history. *Plos one*, 4(9), e6966.
- Nishioka, T., Kawabata, J., & Aoyama, Y. (1998). Baicalein, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *Scutellaria baicalensis*. *Journal of natural products*, 61(11), 1413-1415.
- Nogueiras, C., Spengler, I., Guerra, J. O., Ortiz, Y., Torres, S., García, T. H., ... & Lacret, R. (2010). Contribution to the phytochemical study and biological activity of plants of Cuban flora. *Bioteconología Aplicada*, 27(4), 314-318.
- Ogundipe, O. O., Moody, J. O., Akinyemi, T. O., & Raman, A. (2003). Hypoglycemic potentials of methanolic extracts of selected plant foods in alloxanized mice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1-7.
- Oki, T., Matsui, T., & Osajima, Y. (1999). Inhibitory effect of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors varies according to its origin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 550-553.
- Okuyama, M., Saburi, W., Mori, H., & Kimura, A. (2016).  $\alpha$ -Glucosidases and  $\alpha$ -1, 4-glucan lyases: structures, functions, and physiological actions. *Cellular and molecular life sciences*, 73(14), 2727-2751.

- Organización Mundial de la Salud (2017). Diabetes. Recuperado en mayo de 2018, a partir de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Organización Mundial de la Salud. Recuperado en junio de 2017 a partir de: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
- Ovalle, B. (2016). Estudios fitoquímicos y farmacológicos de *Swietenia humilis* Zucc. (meliaceae): una fuente potencial de fitofármacos para el tratamiento de la diabetes mellitus (Tesis de doctorado). Facultad de Química, UNAM. 179 p.
- Patwardhan, B. (2005). Ethnopharmacology y el descubrimiento de fármacos. *Diario de Etnofarmacología*, 100(1), 50-52.
- Pérez-Tenorio V. (2016). Inhibición de la actividad de  $\alpha$ -glucosidasa por gobernadora (*Larrea tridentata*) y ácido nordihidroguaiarético. (Tesis de licenciatura). Facultad de Ciencias, UNAM. 75pp.
- Pernicova, I., & Korbonits, M. (2014). Metformin [mdash] mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(3), 143-156.
- Quezada-Calvillo, R., & Nichols, B. (2009). Digestion and Absorption of Carbohydrates. *D. LB a. BLN Wilson G. Pond (Ed.), Adequate Food for All*, 69-87.
- Radenković, M., Stojanović, M., & Prostran, M. (2016). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 78, 13-31.
- Rahimi, R., Shams-Ardekani, M. R., & Abdollahi, M. (2010). A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 16(36), 4504-4514.
- Rain-tree. (1996a). Tropical Plant Data Base Cascarilla (*Croton eleuteria*). Reuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.rain-tree.com/cascarilla.htm#.WBzWE-PhC70>.
- Rain-tree. (1996b). Tropical Plant Data Base Scarlet bush (*Hamelia patens*). Reuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.rain-tree.com/scarletbush.htm#.WCTVV-PhC70>.
- Ramzi, S., & Hosseinaveh, V. (2010). Biochemical characterization of digestive  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and  $\beta$ -glucosidase in pistachio green stink bug, *Brachynema germari* Kolenati (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(3), 215-219.
- Rawani, A., Ghosh, A., & Chandra, G. (2010). Mosquito larvicidal activities of *Solanum nigrum* L. leaf extract against *Culex quinquefasciatus* Say. *Parasitology research*, 107(5), 1235-1240.
- Salvatore, T., & Giugliano, D. (1996). Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of acarbose. *Clinical pharmacokinetics*, 30(2), 94-106.

- Sato, K., Muroi, M., Nakamura, M., Fujimura, M., & Takatsuki, A. (2001). Co-existing proteins interfere with the action of nordihydroguaiaretic acid on retrograde Golgi-to-ER protein trafficking in NRK cells and  $\alpha$ -glucosidase reaction in vitro. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 65(4), 996-998.
- Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3).
- Shivanada, B. (2014). *Neurolaena lobata* L. promotes wound healing in Sprague Dawley rats. *International Journal of Applied Basic Medical Research*, 4(2): 106-110.
- Shu, Y. Z. (1998). Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *Journal of natural products*, 61(8), 1053-1071.
- Singh, B., Kaur, T., Kaur, S., Manhas, R. K., & Kaur, A. (2015). An alpha-glucosidase inhibitor from an endophytic *Cladosporium* sp. with potential as a biocontrol agent. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(4), 2020-2034.
- Stepp, J. R., & Moerman, D. E. (2001). The importance of weeds in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(1), 19-23.
- Sohrabipour, S., Kharazmi, F., Soltani, N., & Kamalinejad, M. (2014). Biphasic effect of *Solanum nigrum* fruit aqueous extract on vascular mesenteric beds in non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacognosy research*, 6(2), 148.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*, 237(5), 481-490.
- Trópicos. (2016a). *Croton guatemalensis* Lotsy. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.tropicos.org/Name/12805006>.
- Trópicos. (2016b). *Hamelia patens* Jacq. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.tropicos.org/Name/27901253>.
- Trópicos. (2016c). *Solanum americanum*. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.tropicos.org/Name/29600095>.
- Trópicos. (2016d). *Neurolaena lobata*. Recuperado en noviembre de 2016, a partir de: <http://www.tropicos.org/name/02710787?projectid=7>.
- Useful Tropical Plants. (2014). *Neurolaena lobata*. Recuperado en noviembre de 2016 a partir de: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Neurolaena+lobata>.
- Wardrop, D. J., & Waidyarachchi, S. L. (2010). Synthesis and biological activity of naturally occurring  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Natural product reports*, 27(10), 1431-1468.
- Yoshikawa, M., Nakamura, S., Ozaki, K., Kumahara, A., Morikawa, T., & Matsuda, H. (2007). Structures of steroidal alkaloid oligoglycosides, robeneosides A and B,

and antidiabetogenic constituents from the Brazilian medicinal plant *Solanum lycocarpum*. *Journal of natural products*, 70(2), 210-214.