



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCÉMICO
DE LOS POLISACÁRIDOS DE LA RAÍZ DE
Psacalium decompositum (A. Gray)
H. Robinson & Brettell (MATARIQUE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

P R E S E N T A:

BIOL. HÉCTOR MERINO AGUILAR

DIRECTOR DE TESIS: DR. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/457/09

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director 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 14 de septiembre de 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** del (a) alumno (a) **MERINO AGUILAR HECTOR** con número de cuenta **92028623** con la tesis titulada "**Evaluación del efecto hipoglucémico de los polisacáridos de la raíz de *Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Robinson & Brettell (Matarique)**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. MANUEL JIMENEZ ESTRADA:**

Presidente: DR. RICARDO REYES CHILPA
Vocal: DR. GIL ALFONSO MAGOS GUERRERO
Secretario: DR. MANUEL JIMENEZ ESTRADA
Suplente: DR. RUBEN ROMAN RAMOS
Suplente: DR. FRANCISCO JAVIER ALARCON AGUILAR

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 3 de noviembre de 2009.


Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

*El presente esfuerzo para quién me dio la vida y
sigue apoyándome incondicionalmente
a través de ella: José Merino Méndez*

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por permitirme ampliar mis conocimientos y crecer como ser humano.

Al CONACYT, por los recursos otorgados durante la realización de mis estudios de Maestría, beca No.225772

Al Dr. Manuel Jiménez Estrada a quien agradezco el apoyo, confianza y fuerzas invertidas en la elaboración y culminación de este proyecto de investigación. Para usted el mayor de mis reconocimientos.

Al Dr. Francisco Javier Alarcón Aguilar del Departamento de Ciencias Biológicas y de Salud de la UAM-I, por las facilidades otorgadas en su laboratorio, además de su orientación, sugerencias y por compartir su conocimiento en el campo de la farmacología.

Al Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM, por guiarme durante el desarrollo de la parte experimental y su asesoría en la parte estadística. Por todos sus consejos, estoy en deuda con usted.

Al Dr. Rubén Román Ramos, jefe del Departamento de Ciencias Biológicas y de Salud de la UAM-I, quien sin su participación no hubiese sido posible enriquecer el contenido de esta tesis.

Al Dr. Ricardo Reyes Chilpa por formar parte del jurado de esta tesis y sobretodo por su tolerancia y la manera tan sutil de decirme las cosas.

Al Dr. Juan Núñez Farfán, Coordinador del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por su invaluable amistad. Muchas Gracias.

A la Secretaria Técnica del Posgrado en Ciencias Biológicas Lilia Espinosa Sánchez y a la responsable del área de becas Lilia Jiménez Solís, por todo su apoyo, tiempo, consejos y regaños que bien merecí de su parte. Por favor, no desistan en su loable labor.

Al Dr. Daniel Arrieta Báez por su valiosa ayuda y tiempo otorgado en la interpretación de los espectros de RMN.

A mi hermano del alma el M. en C. Daniel A. Estrada Bárcenas, por toda la paciencia, tolerancia, consejos y su inapreciable amistad.

A mis compañeros de la Maestría, David Chicalote, Marlen Fuentes, Alejandra Sánchez, Alberto Alfaro, Sol Cristians y Viridiana Morales, ya que su compañía fructificó en muchas horas de alegría y muy en especial a María de la Luz Molina, ya que sin su presencia yo no habría aprendido la lección más importante de mi vida.

A Iván Jasso y al Dr. Julio Almanza, del laboratorio S-348 de la UAM-I por su participación en el desarrollo de la parte experimental.

Al D.C.G. Abelardo Álvarez, por todo el conocimiento y tiempo invertido en el diseño de los carteles que han surgido de esta investigación.

A todos los biólogos de la heroica Facultad de Ciencias, que han participado en mi formación académica y si he omitido algún nombre, ha sido de forma accidental.

Y por ultimo, con mucha gratitud y respeto al pueblo de México, que ha financiado mis estudios gracias al pago de sus impuestos, que han sido direccionados a nuestra máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, así como también a la Universidad Autónoma Metropolitana.

*“A todos ustedes, mi eterno agradecimiento
no los defraudaré y les retribuiré con mis conocimientos”*

*No creo en más infierno que tu ausencia.
Paraíso sin ti, yo lo rechazo.
Que ningún juez, declare mi inocencia.*

(Modificado por Antonio Vega
1957-2009)

Índice General

| | |
|----------------------------------------|-------------|
| -Índice General..... | i |
| -Contenido..... | i |
| -Espectros..... | iv |
| -Lista de tablas y cuadros..... | v |
| -Lista de figuras..... | vi |
| -Lista de diagramas..... | vi |
| -Abreviaturas..... | vii |
| -Resumen..... | viii |
| -Abstract..... | x |

Contenido

| | |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| -Introducción..... | 1 |
| -Etnofarmacología..... | 2 |
| -Síndrome Metabólico..... | 4 |
| -Resistencia a la insulina en el SM..... | 6 |
| -Síntesis y regulación de la secreción de insulina..... | 8 |
| -Generalidades de la diabetes mellitus..... | 9 |
| -Clasificación de la DM..... | 11 |
| -Importancia de la DM..... | 14 |
| -Estadísticas de la enfermedad..... | 15 |
| -Complicaciones de la DM y alternativas para su tratamiento..... | 16 |
| <i>-Supresión de la motilidad gástrica.....</i> | 17 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| -Reducción en la absorción de los carbohidratos..... | 18 |
| -Aumento en la secreción de insulina pancreática..... | 18 |
| -Administración de insulina exógena..... | 19 |
| -Disminución de la liberación de glucosa hepática..... | 20 |
| -Incremento en la sensibilidad a la insulina..... | 20 |
| -Pérdida de peso corporal y ejercicio..... | 21 |
| -Las plantas en el tratamiento de la diabetes..... | 24 |
| -Diabetes y medicina tradicional en México..... | 28 |
| -Clasificación botánica de <i>Psacalium decompositum</i>..... | 31 |
| -Componentes químicos y actividad biológica de <i>P. decompositum</i>..... | 33 |
| -Antecedentes del efecto hipoglucémico de <i>P. decompositum</i>..... | 35 |
| -Modelos experimentales para el estudio de plantas con actividad hipoglucemiante..... | 37 |
| -Planteamiento del problema..... | 40 |
| -Objetivo General..... | 42 |
| -Objetivos Específicos..... | 42 |
| -Hipótesis..... | 43 |
| -Materiales y métodos..... | 44 |
| -Instrumentación..... | 44 |
| -Material vegetal..... | 45 |
| -Obtención de los extractos de la raíz de <i>Psacalium decompositum</i>..... | 45 |
| -Obtención de los extractos de las raíces de <i>P. decompositum</i> con EtOH/H₂O (70:30) y agua-directo..... | 48 |
| -Extracción líquido-líquido del extracto acuoso insoluble en MeOH (EAIM)..... | 48 |
| -Fraccionamiento y separación de los extractos activos..... | 50 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| -Animales experimentales..... | 51 |
| -Ensayos biológicos..... | 51 |
| -Análisis estadístico..... | 52 |
| -Resultados..... | 53 |
| -Comparación de los extractos..... | 53 |
| -Comparación de las dosis del EAIM..... | 54 |
| -Evaluación de las fracciones polares del EAIM..... | 55 |
| -Evaluación de la 2ª, 3ª y 4ª extracción acuosa..... | 58 |
| -Evaluación de extracción líquido-líquido (acetonitrilo-agua)..... | 59 |
| -Resultados Espectroscópicos (Anexo 1)..... | 61 |
| -Discusión..... | 63 |
| -Conclusiones..... | 72 |
| -Referencias..... | 73 |
| -Anexo 1..... | 82 |

Espectros

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| -Espectro 1. Espectro de RMN ^1H del EAIM obtenido de las raíces de <i>P. decompositum</i> | 82 |
| -Espectro 2. Espectro de RMN ^{13}C del EAIM obtenido de las raíces de <i>P. decompositum</i> | 83 |
| -Espectro 3. Espectro DEPT de RMN ^{13}C del EAIM obtenido de las raíces de..... <i>P. decompositum</i> | 84 |
| -Espectro 4. Espectro de RMN ^1H de la fracción 18 (Sephadex) del EAIM activo..... | 85 |
| -Espectro 5. Espectro de RMN ^1H de la fracción 21 (Sephadex) del EAIM activo..... | 86 |
| -Espectro 6. Espectro de RMN ^1H de la fracción 26 (Sephadex) del EAIM activo..... | 87 |
| -Espectro 7. Espectro de RMN ^1H del residuo activo obtenido de la extracción..... líquido-líquido acetonitrilo/ H_2O (9:1) del EAIM | 88 |
| -Espectro 8. Espectro DEPT de RMN ^{13}C del residuo activo obtenido de la extracción..... líquido-líquido acetonitrilo/ H_2O (9:1) del EAIM | 89 |
| -Espectro 9. Experimento DEPT de RMN ^{13}C del residuo activo obtenido de..... la extracción líquido-líquido acetonitrilo/ H_2O (9:1) del EAIM | 90 |
| -Espectro 10. Espectro de RMN ^1H de la fracción 63 purificada del residuo activo..... Obtenido por CC en sílica gel | 91 |
| -Espectro 11. Espectro de RMN ^{13}C fracción 63 purificada del residuo activo obtenido..... por CC en sílica gel | 92 |
| -Espectro 12. Experimento DEPT de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido..... por CC en sílica gel | 93 |
| -Espectro 13. Experimento Cosy de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido..... por CC en sílica gel | 94 |
| -Espectro 14. Experimento HMBC de la fracción 63 purificada del residuo activo..... obtenido por CC en sílica gel | 95 |
| -Espectro 15. Espectro MALDI-TOF de la fracción 63 purificada del residuo activo..... obtenido por CC en sílica gel | 96 |
| -Espectro 16. Espectro de RMN ^1H de la MmF01 de <i>M. maritima</i> | 97 |
| -Espectro 17. Espectro de RMN ^{13}C de la MmF02 de <i>M. maritima</i> | 98 |

Lista de tablas y cuadros

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| -Tabla 1. Factores de riesgo identificados para el síndrome metabólico..... | 4 |
| -Tabla 2. Principales causas de defunción en México..... | 15 |
| -Cuadro 1. Sitios de acción, órganos blanco y efectos adversos de los fármacos hipoglucemiantes orales actuales..... | 22 |
| -Cuadro 2. Ejemplos de agentes hipoglucemiantes orales utilizados en el tratamiento de la DM tipo 2..... | 23 |
| -Tabla 3. Plantas mexicanas comestibles con actividad hipoglucemiante demostrada experimentalmente..... | 29 |
| -Tabla 4. Usos tradicionales de <i>P. decompositum</i> | 32 |
| -Tabla 5. Efecto del EAIM y el EASM obtenidos de la raíz de <i>P. decompositum</i> en los niveles de glucosa sanguínea en ratas sanas..... | 53 |
| -Tabla 6. Efecto de diferentes dosis del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones sanos..... | 55 |
| -Tabla 7. Efecto de las fracciones polares obtenidas del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones sanos..... | 56 |
| -Tabla 8. Efecto de las fracciones polares obtenidas del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones con diabetes experimental..... | 57 |
| -Tabla 9. Efecto de la fracción 26 obtenida del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones con diabetes experimental..... | 58 |
| -Tabla 10. Efecto de las extracciones acuosas de la raíz de <i>P. decompositum</i> maceradas en MeOH en ratones sanos..... | 59 |
| -Tabla 11. Efecto de los residuos obtenidos del EAIM macerado en acetonitrilo y acetonitrilo/H ₂ O (9:1) en los niveles de glucosa sanguínea en ratones sanos..... | 60 |
| -Tabla 12. Datos espectroscópicos de la Fructana -1 y <i>M. maritima</i> | 67 |

Lista de figuras

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| -Figura 1: Secuencia patogénica de eventos ligados al desarrollo de la diabetes tipo 2..... | 5 |
| -Figura 2: Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de <i>M. charantia</i> | 25 |
| -Figura 3: Compuestos con actividad hipoglucemiantes aislados de <i>C. roseus</i> | 26 |
| -Figura 4: Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de <i>T. Stans</i> | 26 |
| -Figura 5: Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de <i>T. foenum-graceum</i> | 27 |
| -Figura 6: Compuesto con actividad hipoglucemiante aislado de <i>B. veronicaefolia</i> | 30 |
| -Figura 7: Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de <i>C. obtusifolia</i> | 30 |
| -Figura 8: Fotografía de las raíces del matarique..... | 31 |
| -Figura 9: Sesquiterpenoides naturales y transformados de las raíces de <i>P. decompositum</i> | 33 |
| -Figura 10: Estructura de la peltalosa (U) aislada de las raíces de <i>P. peltatum</i> | 36 |
| -Figura 11: Dispositivo diseñado en el laboratorio para acelerar la evaporación..... de los disolventes | 46 |
| -Figura 12: Dispositivo diseñado en el laboratorio para acelerar la evaporación..... de los disolventes | 46 |
| -Figura 13: Estructura de la Fructana -1..... | 68 |

Lista de diagramas

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| -Diagrama 1. Procedimiento para la obtención del extracto acuoso insoluble en MeOH..... (EAIM) de las raíces de <i>P. decompositum</i> | 47 |
| -Diagrama 2. Procedimiento para la obtención del extracto acuoso directo (A) y..... el extracto acuoso-alcohólico (ETA) de las raíces de <i>P. decompositum</i> | 49 |
| -Diagrama 3. Procedimiento para la obtención de las fracciones del EAIM en Sephadex..... LH20 y extracción líquido-líquido con acetonitrilo y acetonitrilo/H ₂ O | 50 |

Abreviaturas

| | |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------|
| CC | Cromatografía en Columna Abierta |
| CCF | Cromatografía en Capa Fina |
| DM | Diabetes Mellitus |
| EM | Espectrometría de Masas |
| IR | Infrared Spectroscopy (espectroscopía de infrarrojo) |
| <i>m</i> | Señal Múltiple |
| MHz | Megahertz |
| ppm | Partes por Millón |
| RMN ¹H | Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno |
| RMN ¹³C | Resonancia Magnética Nuclear de Carbono |
| δ | Desplazamiento Químico |

Resumen

Esta investigación se enfoca al estudio del efecto hipoglucémico de las fracciones polares de las raíces de *Psacalium decompositum* “matarique” (Asteraceae), una de las plantas más empleadas en México para el control de la diabetes mellitus (DM).

En la actualidad los tratamientos farmacológicos existentes (biguanidas, sulfonilureas, tiazolidinedionas, insulina, etc.) no son curativos y tampoco son el control idóneo de la DM. De hecho, la presentación de complicaciones fatales inherentes a dicha enfermedad es inevitable aún con el uso de estos tratamientos. Ante esta realidad, la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas continúa vigente y una opción se encuentra en el estudio de las plantas medicinales mexicanas.

En el presente trabajo se realizó un fraccionamiento químico del extracto acuoso obtenido de las raíces de *P. decompositum*, el cual en estudios previos mostró efecto hipoglucémico, el fraccionamiento se realizó por cromatografía en columna abierta, monitoreado por cromatografía analítica en capa fina. Las fracciones fueron agrupadas por su desplazamiento cromatográfico y sólo fueron evaluadas farmacológicamente aquellas que revelaron, con reactivos específicos, la presencia de azúcares.

La evaluación farmacológica de las fracciones se realizó en ratones sanos y con diabetes inducida con estreptozotocina. Cada una de las fracciones fue administrada por vía intraperitoneal a una dosis de 150 mg/kg y la glucemia se determinó en muestras de sangre extraídas de la vena caudal a los 0, 120, 240 y 360 min. El control positivo fue tratado con insulina y el negativo recibió solución salina isotónica al 0.9% y/o H₂O destilada.

Los resultados en ratones sanos mostraron que las fracciones polares 18, 21 y 26 reducen significativamente los niveles de glucosa sanguínea a los 240 y 360 min; mientras que en ratones con diabetes experimental moderada produjeron efecto hipoglucémico significativo a los 360 min con respecto a la glucemia inicial y a la del grupo control. La fracción 26 mostró un efecto de mayor intensidad y duración que el producido por una dosis de insulina de 0.75 UI/kg.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono (RMN ^1H y ^{13}C) de las fracciones activas, indicaron que los compuestos mayoritarios son oligosacáridos tipo inulina (fructanos).

Los resultados del presente trabajo validan científicamente el empleo empírico antidiabético de la raíz de *Psacalium decompositum*. Sin embargo, es necesario continuar con la investigación para determinar los mecanismos de acción responsables del efecto hipoglucémico.

Finalmente, se considera importante continuar con los estudios en plantas tradicionalmente usadas como medicinales, con el propósito de darle validez científica a nuestra herencia ancestral herbolaria y avanzar en la búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces y seguras, capaces de abatir costos, sobretodo en aquellos tratamientos prolongados necesarios en enfermedades crónico-degenerativas.

Abstract

This investigation is focused on the study of the hypoglycemic effect of polar fractions from *Psacalium decompositum* roots, “Matarique” (Asteraceae), one of the most used Mexican plants for diabetes mellitus (DM) control.

At present, the current pharmacological treatments (biguanids, sulfonylureas, tiazolidinedions, insulin, etc.) are not curative or completely suitable to DM control. In fact, the development of inherent fatal complications to this disease is inevitable even with the use of these treatments. Therefore, the search of new therapeutic alternatives should be continued and an option is in the study of the Mexican medicinal plants.

In the present work, a chemical fractionation guided by bioassay of a hypoglycemic water extract obtained of the roots of *P. decompositum* was performed. The fractionation was carried out by chromatography in open column, monitoring by analytical thin layer chromatography. The fractions were grouped by their chromatographic displacement and those that revealed the sugar presence, with specific reagents, were pharmacologically evaluated.

The fractions were bio-assayed in healthy and streptozotocin-induced diabetes mice. Each one fraction was administered by intraperitoneal route (150 mg/kg) and glycemia was quantified in blood samples from tail vein at 0, 120, 240 and 360 min. As positive control was used insulin and the negative control received a 0.9% isotonic saline solution and/or distilled water.

The results in healthy mice showed that polar fractions 18, 21 and 26 significantly reduce blood glucose levels at 240 and 360 min; whereas in moderate diabetic mice they produced significant hypoglycemic effect at 360 min, compared with basal glycemia and against control group. Fraction 26 showed bigger effect in intensity and duration than the produced by insulin (0,75 UI/kg).

The nuclear magnetic resonance spectra of hydrogen and carbon (RMN 1H and 13C) of active fractions, indicated that the majority of the compounds are inulin type polysaccharides (fructanes).

The results of the present work validate scientifically the empirical use as anti-diabetic remedy of *Psacalium decompositum* roots. Nevertheless, it is necessary to continue with the investigation to determine the mechanisms of action responsible for the hypoglycemic effect.

Finally, it is considered important to continue with the studies in traditionally used medicinal plants, in order to give scientific validity to our medicinal ancestral inheritance, and to advance in the search of effective therapeutic and safe alternatives, and also be able to lower costs, mainly in those chronic-degenerative diseases that demand prolonged treatments.

1. Introducción

Desde la antigüedad el hombre se ha preocupado por el alivio de sus problemas de salud, sobre todo si éstos son causa de alguna molestia o dolor; en consecuencia, busca diferentes alternativas y muchas veces la respuesta la proporciona la naturaleza. El uso de las plantas con fines curativos se remonta al principio de la historia de la humanidad: el hombre recurría de manera empírica a la naturaleza para mantener y recobrar su salud; así obtuvo el conocimiento para saber cuáles plantas curaban. Este conocimiento lo transmitió de generación en generación y lo incrementó con base en otras experiencias (Juscafresca, 1995).

El aprovechamiento de dichos recursos vegetales se ha conformado con múltiples observaciones y numerosas experiencias acumuladas por grupos étnicos y sociales que habitan en cada país, enmarcadas dentro de las condiciones y circunstancias que otorga el ecosistema, el intercambio social, las enfermedades más comunes de la región y la disponibilidad práctica del recurso. De esta manera, ciertas tradiciones han contribuido a la salud y bienestar de diferentes culturas (Márquez y col., 1999).

La medicina tradicional es la suma del conocimiento, habilidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias de las distintas culturas. Algunas de estas prácticas aún no tienen una explicación científica; sin embargo, se utilizan para el diagnóstico, tratamiento y mantenimiento de la salud. Otros nombres con los que se conoce este tipo de medicina son: complementaria, alternativa o no convencional (WHO, 2000).

2. Etnofarmacología

La gran amplitud de los usos de las plantas ha llevado al desarrollo de nuevos campos de estudio, como lo es la etnofarmacología, conformada por las áreas etnobotánica, etnozooloía, fitoquímica y farmacológica (Lozoya y Lozoya, 1982), cuya definición más aceptada es “la observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional”, propuesta por Schultes en 1991.

La etnofarmacología como ciencia multidisciplinaria se inicia con la búsqueda de nuevas alternativas medicinales a través de un camino experimental que, en el mejor de los casos, concluye con el aislamiento de un compuesto activo para la posterior elaboración de un nuevo medicamento. El inicio de un estudio etnofarmacológico se basa principalmente en el conocimiento popular tradicional de las plantas medicinales, el cual se transmitió de generación tras generación en una comunidad (Lozoya y Lozoya, 1982). Esta medicina se ocupa de todo tipo de padecimientos, desde los síndromes de filiación cultural como el mal de ojo, el susto, males de origen sobrenatural como la brujería, hasta las enfermedades orgánicas más comunes, como la gripa y la diarrea, entre otras más complejas (Lozoya y Lozoya, 1982).

La etnofarmacología tiene como objetivo principal el rescatar y documentar la herencia cultural antes de que ésta se pierda, así como investigar y evaluar los agentes empleados. Esta ciencia ha tomado gran relevancia en los últimos años, ya que varias compañías farmacéuticas están interesadas en las plantas y su potencial para obtener agentes terapéuticos que ayuden al tratamiento de algunas enfermedades de gran prevalencia entre la población (Lozoya y Lozoya, 1982).

El papel de esta disciplina es muy importante en las sociedades actuales ya que se busca validar científicamente los conocimientos ancestrales de plantas y otras especies utilizadas en la medicina tradicional antes de que éstos se pierdan o se distorsionen (Lozoya y Lozoya, 1982).

La herbolaria mexicana representa un recurso viable para continuar con la búsqueda de alternativas terapéuticas sobre todo cuando la medicina convencional se ve limitada para proporcionarle salud a la población, principalmente en aquellos tratamientos prolongados necesarios en enfermedades degenerativas, tales como cáncer, artrosis, esclerosis múltiple, Alzheimer y diabetes, entre otras (Aguilar y Xolalpa, 2002).

3. Síndrome metabólico

El síndrome metabólico (SM) está caracterizado por un conjunto de patologías, tales como obesidad, hipertensión y dislipidemias que se acompañan de alteraciones en el metabolismo glucolipídico, estados proinflamatorios y protrombóticos, las cuales son factores de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares y DM tipo 2 (Gogia y Agarwal, 2006). El vínculo entre todas ellas se atribuye a la resistencia insulínica (RI), favorecida por el aumento de ácidos grasos libres, muchas veces relacionado con el sobrepeso. Este estado provoca trastornos en la utilización de glucosa celular, así como desregulación de su producción hepática (Gogia y Agarwal, 2006).

En la Tabla 1 se muestran los criterios que en 1998 la OMS consideró para que una persona que cumpla 2 o más de ellos, sea diagnosticada con síndrome metabólico.

Tabla 1. Factores de riesgo identificados para el síndrome metabólico.
(Modificado con base en Alberti y Zimmet, 1998)

| CARACTERÍSTICA | CRITERIO |
|--------------------------|---------------|
| Circunferencia Abdominal | |
| Hombre | >120cm |
| Mujer | >88 cm |
| c- HDL en ayuno | |
| Hombre | <40 mg/dL |
| Mujer | < 50 mg/dL |
| Triglicéridos | ≥ 150 mg/dL |
| Glucosa en sangre | ≥ 110 mg/dL |
| Presión sanguínea | ≥ 130/85 mmHg |

El SM está asociado frecuentemente a la DM 2, cuando las altas concentraciones de glucosa causan daño en células β pancreáticas y en células mesangiales, lo que se traduce en defectos en el funcionamiento correcto de diversos órganos, como páncreas y riñón; en este último, la albuminuria refleja la intensidad del daño producido por la DM tipo 2 (Gogia y Agarwal, 2006).

En el desarrollo del síndrome metabólico existe una secuencia patogénica (Figura 1) que se ve potenciada por factores adquiridos, como el exceso de grasa corporal y la escasez de actividad física (Bajaj y DeFronzo, 2003).

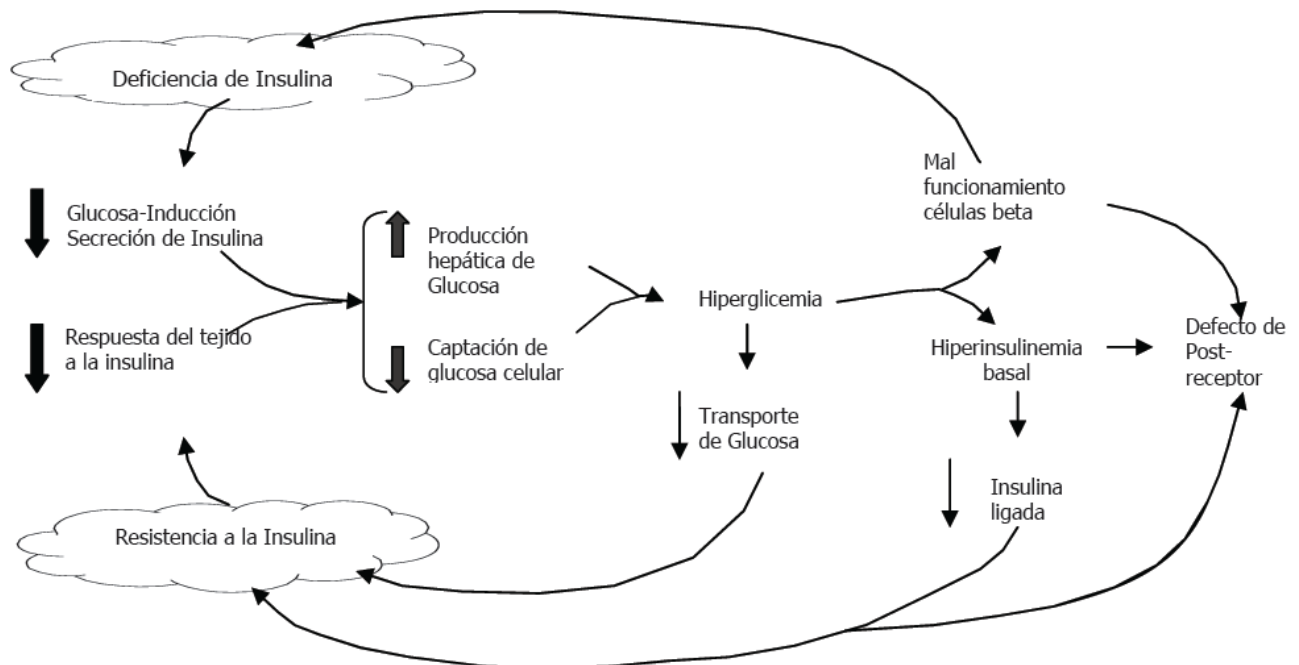


Figura 1: Secuencia patogénica de eventos ligados al desarrollo de la diabetes tipo 2.
Tomado de Bajaj y DeFronzo, 2003

El SM parece tener 3 puntos cruciales en su patogénesis (Gogia y Agarwal, 2006):

1. Obesidad y alteración en el tejido adiposo: factor principal para desarrollar SM, también contribuye a desarrollar hipertensión, altos niveles de colesterol y triacilglicéridos en la sangre y bajas concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL), que están asociadas a enfermedades cardiovasculares.
2. Resistencia a la insulina relacionada con disfunción en los adipocitos.
3. Factores moleculares independientes involucrados en la respuesta inmunológica, vascular y hepática.

3.1 Resistencia a la insulina en el SM

La resistencia a la insulina (RI) se define como la incapacidad o disminución del organismo de responder normalmente a las acciones de la insulina, sobre la captación, metabolismo o almacenamiento de la glucosa, para ejercer sus acciones biológicas en tejidos diana típicos, como músculo esquelético, hígado o tejido adiposo (Tresguerres, 2005).

La RI puede aparecer en el SM, pero no deben confundirse los términos, ni es correcto utilizar RI como sinónimo de SM. La RI crónica o mantenida es el rasgo común ligado a la obesidad, a las enfermedades metabólicas y no metabólicas, que unidas predisponen a la hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, a DM tipo 2, síndrome metabólico, hipertensión arterial (HTA), dislipemias y a enfermedad cardiovascular (Tresguerres, 2005).

El principal contribuyente al desarrollo de RI es el exceso de ácidos grasos libres (AGL) circulantes, que se derivan de las reservas de triglicéridos (TG) del tejido adiposo sometidos a la lipasa dependiente de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), o de la lipólisis de lipoproteínas ricas en TG en los tejidos por la lipoproteinlipasa (Petersen y Shulman, 2006).

Los AGL suponen un exceso de sustrato para los tejidos sensibles a la insulina, y provocan alteraciones del sistema de señales que regulan el metabolismo de la glucosa. Estas sustancias en el músculo modifican la acción de las proteincinasas. En el hígado de animales experimentales se ha comprobado que provocan defectos en los receptores estimulados por insulina. Los AGL aumentan la producción hepática de glucosa y disminuyen en los tejidos periféricos la carencia de la utilización de glucosa mediada por insulina. Mientras que no se afecta la génesis de lipoproteínas hepáticas, relacionada con el efecto estimulante de dichos AGL y de la insulina (Bajaj y DeFronzo, 2003).

En el músculo, en pacientes resistentes a la insulina, obesos y con DM tipo 2, se han encontrado defectos intracelulares en la fosforilación oxidativa de las mitocondrias que se relacionan con la ocupación de las vías metabólicas por los lípidos, llegando incluso a su acumulación en forma de TG (Bajaj y DeFronzo, 2003).

La RI puede ser ocasionada por factores genéticos, edad, estilo sedentario de vida y cambios metabólicos producidos por la obesidad (Petersen y Shulman, 2006).

Además, en tejido adiposo la resistencia a los efectos antilipolíticos de la insulina causa liberación aumentada de ácidos grasos. A su vez, estos ácidos grasos atenúan la capacidad de la insulina para inhibir la producción hepática de glucosa, llegándose a una situación de hiperglucemia (Petersen y Shulman, 2006).

La acumulación de lípidos en los miocitos y en los hepatocitos está fuertemente relacionada con la resistencia a la insulina en diabéticos, parientes no diabéticos de pacientes con DM 2, individuos con intolerancia a la glucosa e individuos obesos. Como consecuencia, en estos individuos se producen hipertrigliceridemias severas, hígado graso y DM (Petersen y Shulman, 2006). La presencia de RI es el mejor predictor de la subsiguiente progresión a la diabetes (Tresguerres, 2005).

4. Síntesis y regulación de la secreción de insulina

La insulina es el principal regulador de las concentraciones de glucosa sanguínea y posee múltiples acciones sobre diferentes tejidos del cuerpo. Posterior a una noche de ayuno, los niveles de insulina se encuentran disminuidos y las concentraciones de glucosa sanguínea se encuentran reguladas por la glucosa almacenada en el hígado. Después de que los alimentos son ingeridos en la dieta, el tubo gastrointestinal los digiere y la glucosa producida es absorbida, causando un incremento en su concentración sanguínea. La liberación de la insulina de las células β del páncreas es estimulada por el incremento de la glucemia. La insulina reduce rápidamente la liberación de glucosa del hígado e incrementa la captura de glucosa por el músculo y el tejido adiposo (Ross et al., 2004).

La insulina se produce exclusivamente en las células β del páncreas en una región celular conocida como islotes de Langerhans. La insulina es una proteína pequeña que se produce a partir de una proteína inactiva más grande llamada preproinsulina. Este precursor contiene una secuencia de aminoácidos en la región amino-terminal que es necesaria para transferirse a través de la membrana del retículo endoplásmico (RE) mediante un proceso post-transduccional. Una vez que la preproinsulina se encuentra en el RE, su péptido señal se remueve proteolíticamente y se genera la proinsulina. La proinsulina resultante contiene ya los tres enlaces disulfuro, indispensables en la forma activa de la hormona. Enseguida, peptidasas específicas actúan sobre la proinsulina liberando la forma madura y activa de la insulina; finalmente la insulina se almacena en gránulos secretorios, los cuales son acumulados en el citoplasma hasta que son liberados al medio extracelular (Ross et al., 2004).

5. Generalidades de la diabetes mellitus.

La diabetes mellitus (DM) se puede definir como un síndrome caracterizado por un estado de hiperglucemia crónica como consecuencia de una producción insuficiente de insulina, resistencia a esta hormona o ambas (ADA, 2006). Sin embargo, además de la hiperglucemia que es el marcador bioquímico de la diabetes, el síndrome se caracteriza por profundas alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (ADA, 2005).

Los síntomas clásicos de la diabetes son resultado del metabolismo anormal de la glucosa, y son debidos principalmente a la ausencia de actividad insulínica, que produce deficiencia en la transferencia de la glucosa del plasma al interior de las células (ADA, 2006).

El cuerpo reacciona como si se encontrara en estado de inanición, con estimulación de la glucogenólisis, gluconeogénesis y lipólisis, con producción de cuerpos cetónicos. La glucosa absorbida durante una comida no se metaboliza a la velocidad normal y por tanto, se acumula en la sangre (**hiperglucemia**) para excretarse en orina (**glucosuria**). La glucosa en orina causa diuresis osmótica, lo cual conduce a un aumento en la producción de orina (**poliuria**). La pérdida de líquido y la hiperglucemia aumentan la osmolaridad del plasma, estimulando el centro de la sed (**polidipsia**). El desdoblamiento de proteínas para proporcionar aminoácidos para la gluconeogénesis causa desgaste muscular y pérdida de peso, algunas veces con un incremento de la ingesta de alimentos (**polifagia**) y visión nublada (ADA, 2006).

Muchos procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes. Éstos van desde la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas con la consecuente producción deficiente de insulina (DM tipo 1), hasta anomalías que generan disminución de la secreción de insulina y/o resistencia a esta hormona (DM tipo 2). La base de dichas anomalías en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas en la diabetes es la acción insuficiente de la insulina en los tejidos blanco (ADA, 2006).

Durante el período prediabético se identifican problemas con la glucosa ingerida y/o problemas con la tolerancia a la glucosa, que son los que llevan a una situación de hiperglucemia; desafortunadamente la DM no sólo consiste en la elevación de glucosa, sino que es un síndrome complejo que debe enfocarse desde un punto de vista integral debido a las repercusiones agudas y crónicas que frecuentemente sufren los sujetos que la padecen (ADA, 2006).

5.1 Clasificación de la DM

La DM no es curable pero puede ser controlada. La meta principal en el tratamiento es mantener los niveles basales de glucemia lo más cerca del rango normal como sea posible (60 a 100 mg/dl). Según su origen, existen tres tipos más comunes de diabetes: Diabetes tipo 1, Diabetes tipo 2 y Diabetes gestacional.

La DM tipo 1 (antes nombrada diabetes juvenil o dependiente de insulina) es una enfermedad que puede aparecer a edades tempranas (antes de los 30 años), sin embargo, se ha notado un incremento de su aparición en etapas de vida más avanzada; esto debido a una destrucción completa de las células β , con ausencia total de insulina, que se relaciona con predisposición genética y que se desencadena por factores ambientales, dejando al paciente dependiente de inyecciones de insulina para sobrevivir (ADA, 2006). Esta forma de diabetes corresponde al 5–10% de los casos.

Cuando un proceso autoinmune origina la DM, se pueden utilizar marcadores de la destrucción inmune de las células β pancreáticas, como por ejemplo los anticuerpos para células de los islotes, para insulina, para la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD65) y para las fosfatasas de tirosina IA-2 y IA-2 β . La tasa de destrucción es variable en cada individuo (ADA, 2006).

Como un factor externo que puede desencadenar el inicio de las manifestaciones de la DM tipo 1, se ha encontrado que la proteína P2-C del virus Coxsackie B4 causante de la rubéola congénita, tiene cierta homología con la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD), que es un componente antigénico de las células β , y mediante un mecanismo de simulación antigénica, ésta u otra proteína viral podría iniciar un proceso autoinmune (Foulis, 1989).

En la DM tipo 1 los signos y síntomas aparecen de manera brusca y la afección es fatal si no se administra tratamiento oportuno con insulina. Este tipo de diabetes en México constituye del 1 al 2% de todos los casos. Su incidencia se aproxima a 2/100 000 habitantes (Landeros, 2000).

La DM tipo 2 (antes conocida como diabetes del adulto o no dependiente de insulina) es la más frecuente y se caracteriza por un defecto en la secreción y/o resistencia a la insulina (ADA, 2006). Los pacientes con DM tipo 2 experimentan cambios en la secreción de insulina, por una disminución de la frecuencia de los pulsos y el retraso en la respuesta a elevaciones de la glucemia. La causa primaria del trastorno de la célula β aún no se conoce (ADA, 2006). Cuando existe RI, los receptores tirocincinasa no responden apropiadamente a la insulina ya sea endógenamente secretada por el páncreas o exógenamente administrada.

La DM 2 representa alrededor del 90-95% de todos los casos de diabetes en el mundo, ésta ocurre más frecuentemente en adultos, pero se ha observado un incremento en adolescentes.

La DM tipo 2 ha aumentando en todo el mundo de forma acelerada. Si en 1997 los datos de prevalencia se encontraban en torno a 124 millones de personas, se estima que en el año 2025 esta cifra llegará a 300 millones (ADA, 2006).

Los trastornos metabólicos producidos por la hiperglucemia y la carencia de glucosa intracelular dan lugar a lesiones en vasos y nervios que desarrollan complicaciones crónicas. Además de aumentar la concentración de glucosa, la acción deficiente de la insulina se traduce frecuentemente en elevación de los niveles de colesterol y/o triglicéridos (ADA, 2006).

La prevalencia de la DM tipo 2 aumenta conforme la edad avanza y es más habitual en sujetos con dislipidemias y antecedentes familiares de DM. En México, uno de cada cuatro individuos mayores de 50 años tiene este tipo de diabetes. También destaca una elevada prevalencia de DM tipo 2 (5%), en individuos con edades que oscilan entre los 35 y 45 años (Landeros, 2000).

En los últimos años se han descubierto muchos genes relacionados con la diabetes, aunque este componente genético es complejo y, posiblemente, debe acompañarse de factores ambientales relacionados, fundamentalmente, con los hábitos de vida, sedentarismo y alimentación inadecuada. Sin embargo, la genética de esta forma de diabetes es compleja y no está claramente definida (ADA, 2006).

La mayor parte de los casos de DM tipo 2 se producen en el contexto de lo que se conoce como síndrome metabólico. En este síndrome se asocian diabetes, hipertensión arterial, aumento de los niveles de colesterol, triglicéridos y/o ácido úrico, así como sobrepeso, muy probablemente relacionados a la resistencia a insulina. El síndrome metabólico eleva notablemente el riesgo cardiovascular y es una causa fundamental de muerte en los países desarrollados (ADA, 2006).

El 80% de las personas con DM tipo 2 son obesas y esta condición por sí misma causa cierto grado de resistencia a insulina. Pacientes que no son obesos muchas veces tienen mayor cantidad de grasa corporal distribuida predominantemente en la región abdominal (ADA, 2006).

En la diabetes gestacional hay un grado de intolerancia a la glucosa, el cual se inicia o se manifiesta por primera vez durante la gestación (Foster, 1998). Se presenta intolerancia a la glucosa debido a la elevación del lactógeno placentario; no incluye a pacientes con diagnóstico previo de diabetes y que se embarazan. Al término del embarazo es posible que la paciente regrese a un estado de tolerancia normal a la glucosa o bien permanezca con intolerancia a la glucosa o con diabetes (Wood et al., 2000). Los estudios de seguimiento han demostrado que del 30 al 50% de estas mujeres desarrollará diabetes tipo 2 en los 10 años posteriores al evento obstétrico; además, 70% de las pacientes con diabetes gestacional repiten el trastorno en el siguiente embarazo (Hernández, 2005).

Otros tipos específicos de diabetes se presentan en menos del 5% de todos los casos diagnosticados, entre ellos se encuentran los relacionados con defectos genéticos en la función de las células β , defectos genéticos relacionados con la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino, otras enfermedades endocrinas, diabetes inducida por sustancias químicas y medicamentos, infecciones, formas poco comunes de diabetes mediada por el sistema inmunológico y otros síndromes genéticos que en ocasiones se relacionan con diabetes (ADA, 2006).

5.2 Importancia de la DM

La diabetes constituye un problema de salud pública mundial, tanto por los cuantiosos recursos requeridos para su atención, como por la disponibilidad limitada de opciones que permitan tratamientos eficientes (Hernández-Ávila y Olaíz, 2002).

México no queda fuera de este contexto, ya que en los últimos 50 años, ha aumentado más de 30 veces la incidencia de esta enfermedad y se estima que para 2025 ocupará el séptimo lugar mundial con 12 millones de enfermos (Landeros, 2000).

En nuestro país, las complicaciones relacionadas con la diabetes representaron la primer causa de muerte entre la población de edad adulta durante 2005 (Tabla 2).

Tabla 2. Principales causas de defunción en México ^a

| Causas | Defunciones | % |
|---------------------------------------------------|--------------------|----------|
| Diabetes mellitus | 3 901 | 8.5 |
| Asfixia y trauma al nacimiento | 3 533 | 7.7 |
| Enfermedad cerebrovascular | 2 455 | 5.3 |
| Infecciones respiratorias | 2 403 | 5.2 |
| Cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado | 2 322 | 5.0 |
| Enfermedades isquémicas del corazón | 1 340 | 2.9 |
| Enfermedad pulmonar obstructiva crónica | 1 133 | 2.5 |
| VIH/SIDA | 1 119 | 2.4 |
| Enfermedades hipertensivas | 1 084 | 2.3 |
| Leucemia | 661 | 1.4 |
| Tuberculosis | 540 | 1.2 |
| Tumor maligno de tráquea, bronquios y pulmón | 323 | 0.7 |
| Total | | 45.1 |

^aDatos de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud del 2005 (IMSS).

5.3 Estadísticas de la enfermedad

De acuerdo con la OMS, en el año 2005 existían alrededor de 180 millones de personas con diabetes en el mundo y se estima que en el año 2030 esta cifra aumentará a más de 370 millones, debido principalmente al aumento en el promedio de vida y la urbanización de la población (WHO, 2005).

México ostenta el noveno lugar entre los países con mayor prevalencia de diabetes (SINAIS, 2005). A partir de los 45 años se presenta la mayor tasa de incidencia, siendo entre 60 a 64 años el grupo de edad más afectado. Por otro lado, la Organización Panamericana para la Salud ubica a las enfermedades crónico degenerativas como la primera causa de morbilidad y mortalidad en México (Hernández-Ávila y Olaíz, 2002) y se estima que diariamente mueren 39 derechohabientes a causa de las complicaciones de este padecimiento; además, se sabe que el 70% de las personas con diabetes tienen formas moderadas o severas de daño neurológico periférico, el cual, en casos severos, puede llevar a amputaciones de las extremidades inferiores.

En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) la DM tipo 2 se sitúa entre los cinco primeros lugares de demanda de consulta externa y es uno de los principales motivos de ingreso hospitalario. Esta enfermedad es la que se diagnostica con mayor frecuencia en nuestro país y constituye entre el 85 y 90% de todos los casos de diabetes, presentando una tasa de mortalidad de $1/13$. Por el contrario, la DM tipo 1 registra una tasa de mortalidad de $1/365$ y se estima que este tipo de diabetes constituye menos del 5% de todos los casos en el país (SINAIS, 2005).

5.4 Complicaciones de la DM y alternativas para su tratamiento

La DM es una enfermedad de largo plazo y degenerativa, asociada con un gran número de complicaciones clínicas. La enfermedad afecta los pequeños vasos sanguíneos de la retina, el riñón y los nervios periféricos, estas alteraciones están directamente relacionadas con la duración y severidad de la hiperglucemia (Ross et al., 2004).

Estas complicaciones microvasculares pueden provocar una serie de inconvenientes, los más comunes son: ceguera, insuficiencia renal crónica y daño a las fibras nerviosas de las extremidades, principalmente en los pies, donde se presentan ulceraciones tan graves que la mayoría de las veces es necesario amputar uno o dos de los miembros a los pacientes. Los vasos sanguíneos mayores también son afectados en el corazón, cerebro y circulación periférica (daños a nivel macrovascular). Los pacientes diabéticos tienen altos índices de insuficiencia cardíaca, embolias y enfermedades de tipo vascular periférica, con respecto a los individuos normales de su misma edad y sexo. Estas complicaciones contribuyen significativamente al incremento en los índices de mortalidad en las personas diabéticas (Ross et al., 2004).

La terapia de la DM está enfocada en la reducción de la hiperglucemia ya que la regulación de los niveles de glucosa sanguínea disminuye los riesgos por complicaciones macro y microvasculares de la enfermedad (Cheng y Fantus, 2005).

Los principales mecanismos mediante los cuales los agentes terapéuticos reducen la hiperglucemia son:

5.4.1 *Supresión de la motilidad gástrica.*

Una reducción de la motilidad gástrica resultará en una liberación retardada del contenido de carbohidratos de los alimentos en el intestino delgado y además incrementará la distensión gástrica, disminuyendo el volumen del alimento que fue consumido. Se cree que parte de la eficacia mostrada por el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y por la colescistocinina (CCK) en pacientes diabéticos se debe a sus efectos sobre la motilidad gástrica (Cheng y Fantus, 2005).

Sin embargo, estos tratamientos han mostrado diferentes efectos adversos como náuseas y vómito (inherentes a una disminución de la motilidad gástrica), lo que ha limitado su aceptación en tratamientos a largo plazo (Cheng y Fantus, 2005).

5.4.2 Reducción en la absorción de los carbohidratos.

La restricción del contenido de carbohidratos de la dieta es obviamente un método para reducir la absorción de los mismos en el organismo. Los alimentos que contienen un alto contenido de fibra soluble también retardan la absorción de los carbohidratos. Los carbohidratos muy complejos necesitan ser degradados por enzimas intestinales -por ejemplo la amilasa- en subunidades monosacáridas antes de su absorción en el tracto gastrointestinal. La inhibición de ciertas enzimas disacaridasas (por ejemplo la α 1-glucosidasa) presentes en el epitelio intestinal representa uno de los blancos de acción más estudiado para el desarrollo de nuevos fármacos que disminuyan la absorción de la glucosa desde el lumen intestinal, la cual se lleva a cabo mediante un proceso activo en el que participan transportadores de glucosa dependientes de sodio (Cheng y Fantus, 2005). Algunos productos de este tipo, como la acarbosa y el miglitol (Cuadros 1 y 2), se han comercializado recientemente.

5.4.3 Aumento en la secreción de insulina pancreática.

La hiperglucemia en la DM tipo 2 generalmente ocurre por una disfunción en la secreción de insulina, que se agrava por la resistencia que desarrollan los tejidos sensibles a esta hormona. Las sulfonilureas (Cuadros 1 y 2) incrementan la secreción de insulina a través del bloqueo de los canales de potasio dependientes de ATP (K^+ ATP) que se encuentran presentes en las células β pancreáticas (Cheng y Fantus, 2005).

El resultado de esta acción es el incremento en la entrada de calcio y finalmente la fusión y la fisión de las vesículas que contienen la insulina. Los fármacos que comparten este mecanismo de acción producen hipoglucemia debido a que la liberación de insulina que se produce, es independiente de las concentraciones de glucosa sanguínea. La eficacia de las sulfonilureas está limitada por la pérdida progresiva de células β con el paso del tiempo (Cheng y Fantus, 2005).

Después de una terapia de 10 años, estos fármacos son incapaces de estimular eficientemente la secreción de insulina, lo cual limita su uso en la DM tipo 2. Por este motivo, frecuentemente el tratamiento de la diabetes de tipo 2 se basa en una terapia de combinación de fármacos (Cheng y Fantus, 2005).

5.4.4 Administración de insulina exógena.

La deficiencia absoluta de insulina en el organismo es tratada con el reemplazo de esta hormona, por lo que constituye la única terapia para el tratamiento de la DM tipo 1. La terapia con insulina exógena se realiza mediante la inyección subcutánea de la hormona. La insulina es también necesaria para aquellos pacientes con DM tipo 2 que no responden a la terapia con fármacos orales, situación común con el paso de los años y el desarrollo de la enfermedad. Los pacientes tratados con insulina tienen un riesgo muy alto de sufrir hipoglucemia cuando los niveles de glucosa sanguínea (NGS) disminuyen por debajo de los valores normales; además, la administración de insulina exógena mediante inyecciones subcutáneas, con el objetivo de evitar su degradación por las enzimas gastrointestinales e incrementar su biodisponibilidad, resulta molesto para los pacientes (Cheng y Fantus, 2005).

5.4.5 Disminución de la liberación de glucosa hepática.

Durante la hiperglucemia en la DM tipo 2 está ampliamente establecido que se presenta un incremento en la liberación de la glucosa hepática, por lo tanto, cualquier tratamiento que reduzca o inhiba este mecanismo, disminuirá los niveles de glucosa sanguínea (Cheng y Fantus, 2005).

La metformina (Cuadros 1 y 2), uno de los fármacos de uso frecuente para tratar la diabetes tipo 2, ejerce su efecto farmacológico a través de este mecanismo. La insulina también inhibe la liberación de glucosa hepática; por el contrario, el glucagón incrementa la liberación de glucosa hepática, por lo que, cualquier mecanismo que interfiera con la actividad del glucagón también disminuirá la glucemia. De manera alterna, los fármacos que inhibieran cualquiera de las enzimas involucradas en la glucogenólisis o en la gluconeogénesis pudieran tener un efecto relevante en disminuir la liberación de la glucosa hepática (Cheng y Fantus, 2005).

5.4.6 Incremento en la sensibilidad a la insulina.

La resistencia a la insulina es una característica patofisiológica de la DM tipo 2. Para incrementar la sensibilidad de las células a la insulina se han recomendado cambios en el estilo de vida de los pacientes y algunos tratamientos farmacológicos. La metformina también incrementa la sensibilidad a la insulina. Las tiazolidinedionas (Cuadros 1 y 2) agonistas del receptor nuclear PPAR γ (receptor activado por proliferadores de peroxisomas) se están empleando a nivel clínico para el tratamiento de la DM tipo 2; estos agonistas del PPAR γ incrementan la sensibilidad a la insulina mediante un aumento en la transcripción de los genes que participan en el proceso de sensibilización (Cheng y Fantus, 2005).

5.4.7 Pérdida de peso corporal y ejercicio.

Un tratamiento efectivo de la DM 2 es la pérdida de peso corporal, especialmente de tejido adiposo visceral (abdominal), debido a la restricción parcial en la ingesta calórica y de carbohidratos; la pérdida de peso también mejora la sensibilidad a la insulina. Así, los niveles de glucosa sanguínea permanecen disminuidos a pesar de un incremento en el consumo de calorías en la dieta (Cheng y Fantus, 2005).

Con las elevadas concentraciones de ácidos grasos presentes en el plasma de las personas obesas existe un incremento de liberación de glucosa hepática, además de una inhibición en la acción de la insulina en el músculo esquelético. Con la pérdida de peso corporal, se presenta una disminución del contenido de tejido adiposo y por lo tanto, un decremento en la liberación de ácidos grasos al torrente sanguíneo. El ejercicio también provoca un aumento en la sensibilidad a la insulina y disminuye las concentraciones de glucosa en la DM tipo 2. A largo plazo, el ejercicio reduce la cantidad de tejido adiposo visceral e incrementa la captación de glucosa en el músculo esquelético en un periodo posprandial. La captación de glucosa incrementa con el ejercicio debido a que durante esta actividad se promueve la translocación de los transportadores de glucosa GLUT-4 a la superficie celular. Este efecto es independiente de la insulina y por lo tanto constituye un blanco atractivo para el desarrollo de nuevos fármacos (Cheng y Fantus, 2005).

Un cambio en el estilo de vida con un aumento en el ejercicio y una disminución de peso corporal han mostrado tener efecto preventivo en el desarrollo de la DM tipo 2.

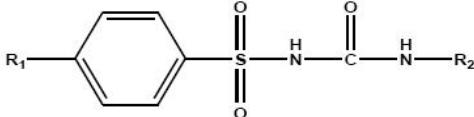
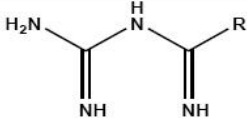
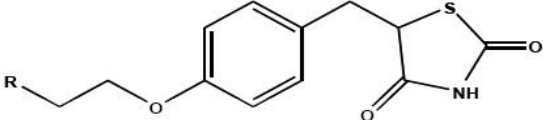
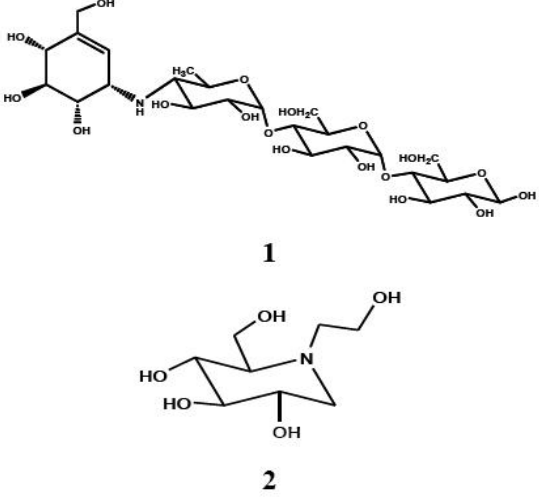
Por lo tanto, el promover la actividad física y un control en la dieta han llegado a convertirse en un desafío de salud pública para aquellos gobiernos que intentan controlar los altos índices de prevalencia de la DM tipo 2 (Aguilar, 2002).

Cuadro 1. Sitios de acción, órganos blanco y efectos adversos de los fármacos hipoglucemiantes orales actuales (Modificado con base en Moller, 2001)

| Fármaco | Sitio de Acción | Órgano Blanco | Efectos Adversos |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------|
| Insulina | Receptor de Insulina | Hígado, músculo, tejido adiposo | Hipoglucemia y Aumento de peso |
| Sulfonilureas (glibenclamida, tolbutamida) | Receptor SU | Células β pancreáticas | Hipoglucemia y aumento de peso |
| Nateglinida Repaglinida | Canal de K ⁺ dependiente de ATP | | |
| Biguanidas (metformina) | Aún desconocido | Hígado | Disturbios Gastrointestinales Acidosis láctica |
| Inhibidores de la α-glucosidasas (acarbose) | α -glucosidasas | Intestino | Disturbios gastrointestinales |
| Tiazolidinedionas (pioglitazona, rosiglitazona) | PPAR γ | Tejido adiposo, músculo, hígado | Aumento de peso, edema, anemia |

En el cuadro 2 se esquematizan los principales hipoglucemiantes orales actuales para la DM tipo 2:

Cuadro 2. Ejemplos de agentes hipoglucemiantes orales utilizados en el tratamiento de la DM tipo 2.
(Tomado de Guerrero-Analco, 2007)

| Categoría | Núcleo base | Ejemplos |
|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Sulfonilureas |  <p>1: $R_1 = C_{10}H_{11}O_2NCl$, $R_2 = C_6H_{11}$ 2: $R_1 = CH_3$, $R_2 = C_4H_9$ 3: $R_1 = C_{10}H_{14}O_2N$, $R_2 = C_7H_{13}$</p> | 1: glibenclamida 2: tolbutamida 3: glimepirida |
| Biguanidas |  <p>1: $R = NH(CH_2)_3$ 2: $R = NHCH_2C_6C_5$</p> | 1: metformina 2: fenformina |
| Tiazolidinedionas |  <p>1: $R = C_7H_8N$ 2: $R = C_7H_8N$</p> | 1: pioglitazona 2: rosiglitazona |
| Inhibidores de la α -glucosidasa |  <p>1 2</p> | 1: acarbosa 2: miglitol |

6. Las plantas en el tratamiento de la diabetes

Además de los tratamientos antes mencionados, para el control de la diabetes también se emplean preparados tradicionales. Los pacientes diabéticos siempre utilizan plantas con o sin prescripción médica. Normalmente los pacientes son diagnosticados en algún centro primario para el cuidado de la salud, en donde los médicos encargados regularmente prescriben tratamientos farmacológicos convencionales. Sin embargo, una vez hecho el diagnóstico, los pacientes recurren también a los tratamientos prescritos por los curanderos locales o vendedores de hierbas (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Soumyanath, 2006).

Desde tiempos antiguos se ha reportado el uso de plantas en el tratamiento de la DM. Una gran cantidad de plantas se ha descrito para el tratamiento de esta enfermedad en todo el mundo y debido al gran número de estudios etnobotánicos existentes, resulta difícil precisar la cantidad de especies medicinales usadas empíricamente en el control de este padecimiento (Alarcón, 1997).

Las culturas emplean con frecuencia extractos de plantas medicinales como tratamientos para la DM. Teóricamente, las plantas medicinales pueden actuar como agentes hipoglucemiantes a través de varios mecanismos. Así por ejemplo, las plantas con alto contenido de fibra pueden disminuir la absorción de glucosa. Sin embargo, para los remedios herbolarios éste parece ser un mecanismo de acción cuestionable porque el volumen consumido parece que no es suficiente para tal efecto. Otros remedios pueden modificar los péptidos gastrointestinales implicados en la secreción de la insulina. Otros posibles mecanismos podrían implicar alteraciones en la sensibilidad o la síntesis de la insulina, la inhibición de la insulina o su interrupción enzimática, interferencia con la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos o con la gluconeogénesis (Soumyanath, 2006).

Entre las plantas ampliamente utilizadas a nivel mundial para el tratamiento de la DM tipo 2 se mencionan: *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae), *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae), *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Liliaceae), *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae), *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth (Bignoniaceae), *Urtica dioica* L. (Urticaceae), *Lupinus albus* L., *Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae), *Allium cepa* L. y *A. sativum* L. (Liliaceae) (Marles y Farnsworth, 1994, 1995).

M. charantia es la planta más estudiada a nivel mundial. Se ha estudiado el efecto producido por sus flores, frutos, hojas, etc., tanto a nivel experimental como a nivel clínico, se ha estudiado su efecto hipoglucémico agudo y crónico, sus efectos toxicológicos *in vivo* e *in vitro*. Además, han sido propuestas varias sustancias como las responsables de la actividad hipoglucemiante, tal como la mezcla de dos glucoesteroles: β -sitosterol-D-glucósido (A) y 5-25- estigmastadieno-3- β -ol-D-glucósido (B) (Ali et al., 1993, Tennekoon et al., 1994) (Figura 2).

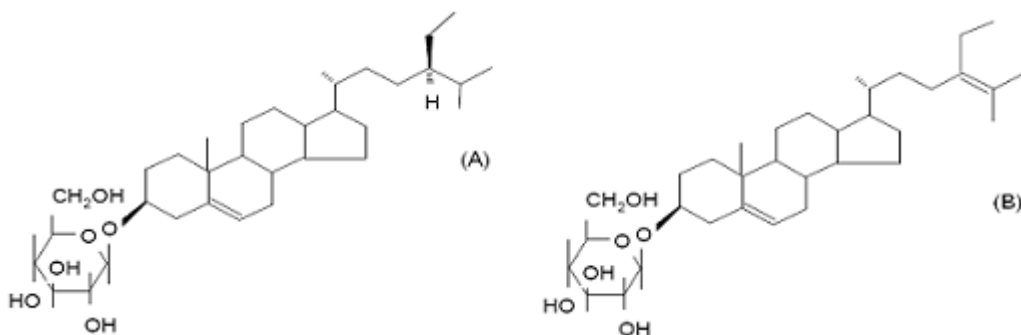


Figura 2. Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de *M. charantia*: β -sitosterol-D-glucósido y (B) 5-25-estigmastadieno-3- β -ol-D-glucósido

De *C. roseus* se aislaron los alcaloides catarantina (C), leurosina (D), tetrahydroalstonina (E) y vindolina (F). (De-Luca y Cutler, 1987) (Figura 3).

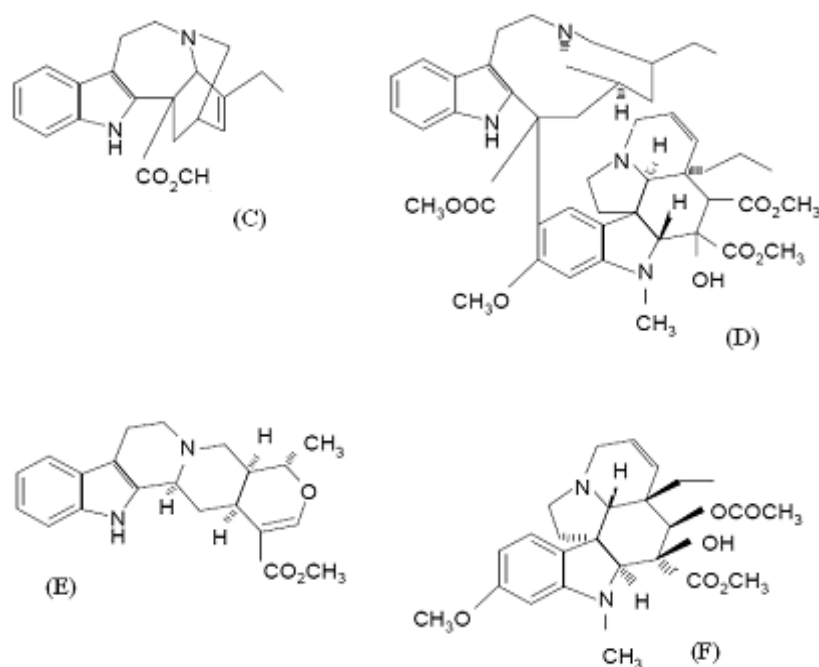


Figura 3. Compuestos con actividad hipoglucemiantes aislados de *C. roseus*: (C) catarantina, (D) leurosina, (E) tetrahydroalstonina y (F) vindolina.

De *T. stans* se han aislado los alcaloides tecomina (G) y tecostanina (H) (Hammouda et al., 1964, Hammouda y Amer, 1966) (Figura 4).

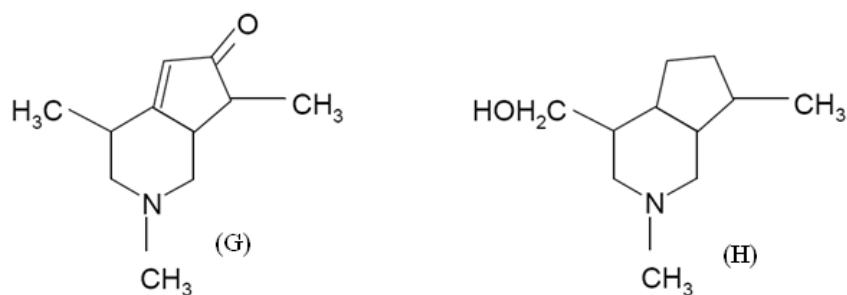


Figura 4. Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de *T. stans*: (G) tecomina y (H) tecostanina.

De *T. foenum-graecum* algunos compuestos son: cumarina (I), fenogreequina (J) y escopoletina (K) (Marles y Farnsworth, 1995) (Figura 5).

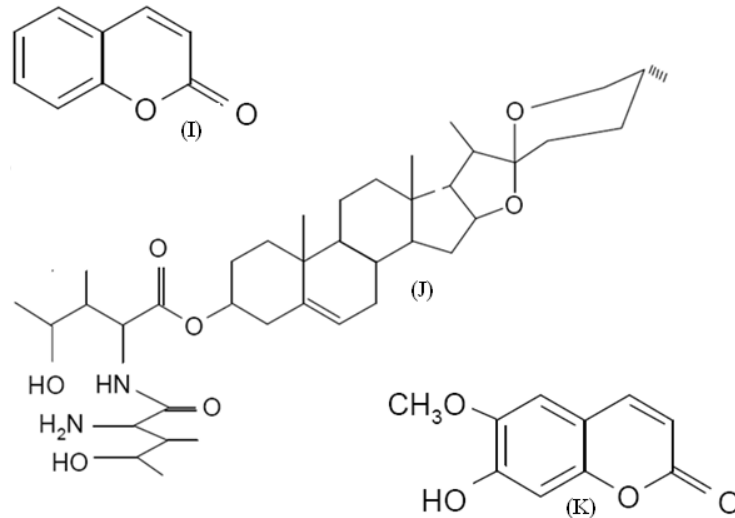


Figura 5. Compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de *T. foenum-graceum*: cumarina (I), fenogreequina (J) y escopoletina (K)

Es importante señalar que más del 10% de las plantas reportadas mundialmente como antidiabéticas crecen en México (Aguilar et al., 1994).

Sin embargo, a pesar de que estas plantas representan una alternativa útil para el control de la DM al alcance de la mayoría de la población, ya que representan una fuente potencial de materia prima para la obtención de nuevos fármacos hipoglucemiantes orales, su investigación experimental básica y clínica en nuestro país es incipiente (Alarcón, 1997).

7. Diabetes y medicina tradicional en México

En México, la información oficial disponible acerca del uso de plantas para el tratamiento de la diabetes es limitada, se ha documentado que 306 especies pertenecientes a 235 géneros y 93 familias son usadas empíricamente para el control de la diabetes. Las familias Asteraceae y Fabaceae son las más utilizadas, seguido por Cactaceae, Solanaceae, Euforbiaceae y Lamiaceae (Martínez, 1959; Aguilar y Xolalpa, 2002; Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

En el siglo XVI, la DM no era conocida, la preocupación del curandero se enfocaba en el tratamiento de los síntomas. La DM permaneció desconocida y no se pensaba en las alteraciones metabólicas, y cada una de sus manifestaciones se seguía tratando por separado. No fue sino hasta finales del siglo XIX y durante el siglo XX, cuando se precisó la patología de la enfermedad, que se originó el empleo de múltiples terapias. Por otra parte, la herbolaria casera y el curanderismo popular continuaban tratando sólo la sintomatología. Fue a lo largo del siglo XX cuando el conocimiento médico académico sobre la DM empezó a ser incorporado dentro de la cultura médica popular y, gracias a la investigación etnobotánica, se comenzó a registrar la manera en que la población mexicana se refería y trataba a la diabetes (Alarcón et al., 1998; Aguilar y Xolalpa, 2002).

Para el primer tercio del siglo XX, el profesor Maximino Martínez, en su libro *Plantas Medicinales de México*, cita para el tratamiento de la diabetes las plantas: cuajilote (*Parmentiera aculeata* (Kunth) Seem.), damiana (*Turnera diffusa* Willd. ex Schult.), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.), matarique (*Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Robinson & Brettell) y tronadora (*Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth).

Poco a poco fueron aumentando las investigaciones acerca de las plantas mexicanas hipoglucemiantes y el Instituto Nacional Indigenista en 1994 cita algunas más: cocoyol (*Acrocomia mexicana* Karw. ex Mart.), prodigiosa (*Artemisia absinthium* L.), lengua de gallina (*Epidendrum oerstedii* Rchb.f.), lágrima de San Pedro (*Coix lacryma-jobi* L.), tejocote (*Cydonia oblonga* Mill.), gobernadora (*Larrea tridentata* (DC.) Coville).

En nuestro país, la gente que sufre DM ha utilizado preparaciones hechas a partir de plantas, bebiendo un vaso de la infusión o del jugo ya sea de las hojas, tallos o el fruto antes de cada comida, tres veces al día para obtener efecto hipoglucémico durante las 5 ó 6 horas posteriores (Román et al., 1991; Alarcón, 1997). Algunas de estas plantas utilizadas por la población son comestibles (Tabla 3), por lo que conjuntan dos factores muy importantes en el tratamiento de la enfermedad: formar parte de una mejor dieta y tener efecto hipoglucémico (Román et al, 1995).

Tabla 3. Plantas mexicanas comestibles con actividad hipoglucemiante demostrada experimentalmente (Román et al., 1995).

| Nombre científico | Familia | Nombre común | Parte utilizada y preparación |
|-----------------------------------|----------------|--------------|-------------------------------|
| <i>Cuminum cyminum</i> Linn. | Apiaceae | Comino | Infusión de las semillas |
| <i>Cucumis sativus</i> Linn. | Cucurbitaceae | Pepino | Jugo del fruto |
| <i>Cucurbita ficifolia</i> B. | Cucurbitaceae | Chilacayote | Jugo del fruto |
| <i>Opuntia streptacantha</i> Lem. | Cactaceae | Nopal | Jugo del tallo |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> Linn. | Fabaceae | Fríjol | Infusión de la vaina |
| <i>Spinacea oleracea</i> Linn. | Chenopodiaceae | Espinaca | Jugo de las hojas |

Por otra parte, los avances en el aislamiento y caracterización química de las sustancias responsables de la actividad hipoglucemiante de las plantas mexicanas empleadas en el tratamiento de la DM son insuficientes. En algunos casos se ha propuesto un agente hipoglucemiante potencial, por ejemplo el flavonoide 5,7,3'-trihydroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona (R) aislado de *Brickellia veronicaefolia* Gray. (L) (Pérez et al., 2000a) (Figura 6).

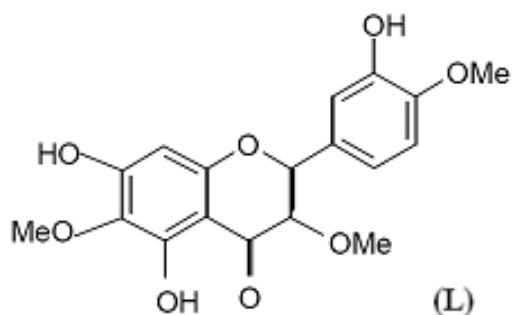


Figura 6. Compuesto con actividad hipoglucemiante aislado de *B. veronicaefolia* Gray: 5,7,3'-trihydroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona (R).

De *Cecropia obtusifolia* se aislaron: ácido clorogénico (M) e isoorientina (N) (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001) (Figura 7).

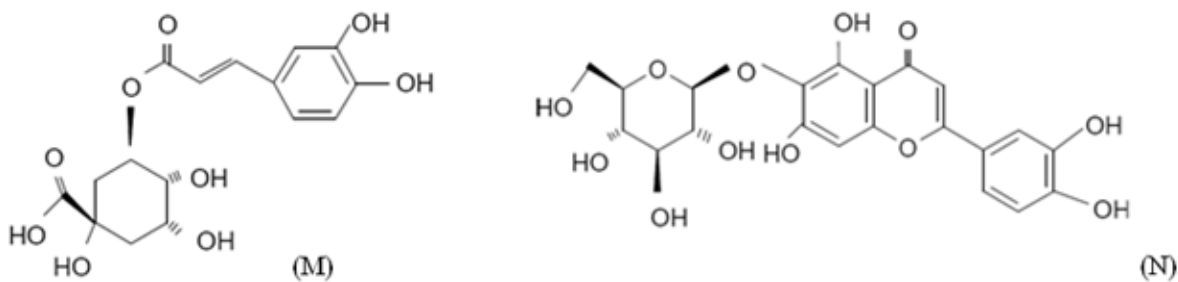


Figura 7. Ácido clorogénico (M) e isoorientina (N), compuestos con actividad hipoglucemiante aislados de *C. obtusifolia*

Aguilar y Xolalpa publicaron en el año 2002 una recopilación de plantas empleadas popularmente como hipoglucemiantes y registraron que las hojas son las estructuras vegetales más utilizadas, seguidas de los tallos y las raíces. Dentro de este listado se encuentra mencionado el matarique (*Psacalium decompositum*), localizado dentro de la familia Asteraceae, el cual es motivo de estudio en este trabajo (Figura 8).

8. Clasificación botánica de *Psacalium decompositum*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Psacalium*

Especie: *Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Robinson & Brettell

Nombre vulgar: matarique.

Sinonimias *Cacalia decomposita* A. Gray, *Mesadenia decomposita* (A. Gray) Standley; *Odontotrichum decompositum* (A. Gray) Rydberg.

En nuestro país, a algunas de las plantas medicinales de uso común se les ha dividido en complejos, debido a que comparten características en común, como el nombre, características morfológicas, aromáticas o por su empleo “tradicional” (Bye, 1995).



Figura 8: Fotografía de las raíces del matarique

P. decompositum es una planta herbácea que junto con *Psacalium peltatum* H.B.K. (Cass), *Psacalium sinuatum* (Cerv.) Rob. & Brettell y *Acourtia thurberi* (Gray) Reveal & King conforman el complejo “matarique” (Bye, 1995).

Es una planta terrestre, silvestre, que habita principalmente en la Sierra Madre Occidental y en el centro del país en un clima semiseco, entre los 1950 y los 2050 metros sobre el nivel del mar, donde se distribuye en zonas montañosas; también es conocida como Matariqui, Pitcáwi en tarahumara, llega a medir entre 30 cm a 1.6 metros de altura. Posee un rizoma fibroso grueso, los tallos son casi leñosos, densamente pilosos o hirsutos en la base con pelos café (Linares y Bye, 1987).

La inflorescencia posee de 10 a 24 flores, con pedúnculos de hasta 2 cm de largo. Las flores son hermafroditas, corola simpétala, de color crema a café, 5 estambres. Los aquenios son elipsoides de 3 a 6 mm de largo, vilano de cerdas color blanco. Posee un rizoma fibroso grueso (Linares y Bye, 1987). Este género y en general la familia de las Asteraceae se caracterizan por sintetizar una gran cantidad de metabolitos secundarios, los cuales son importantes en aspectos de quimiotaxonomía, no solamente a nivel familia sino inclusive a nivel genérico o de especie, ya que se puede establecer relación estructural y biogénica.

Tabla 4. Usos tradicionales de *P. decompositum* (Modificado con base en Martínez, 1959 e INI, 1994).

| Padecimiento | Modo de empleo | Parte de la planta empleada |
|------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Diabetes | Infusión | Raíces |
| Reumatismo | Infusión y maceración | Planta completa |
| Estreñimiento | Infusión | Planta completa |
| Neuralgias | Infusión | Hoja, Tallo y Flor |
| Cicatrización de las Heridas | Maceración | Tallo y Hojas |

Además, el té hecho con la raíz se emplea contra la malaria, la fiebre, tumores, úlceras, dolores del corazón y enfermedades renales. Las raíces machacadas se usan para tratar las mordidas de serpientes, así como para el dolor de dientes, colocando un pedazo de raíz en la pieza con caries (INI, 1994).

8.1 Componentes químicos y actividad biológica de *P. decompositum*

En los estudios dirigidos para determinar los constituyentes químicos de las raíces de *P. decompositum* han sido examinados numerosos extractos. Del extracto hexánico se han aislado y caracterizado más de diez componentes, siendo el cacalol, la cacalona, la maturina, la maturinona y la maturona los sesquiterpenoides más abundantes en ella (Romo y Joseph-Nathan, 1964, Correa y Romo, 1966) Figura 9.

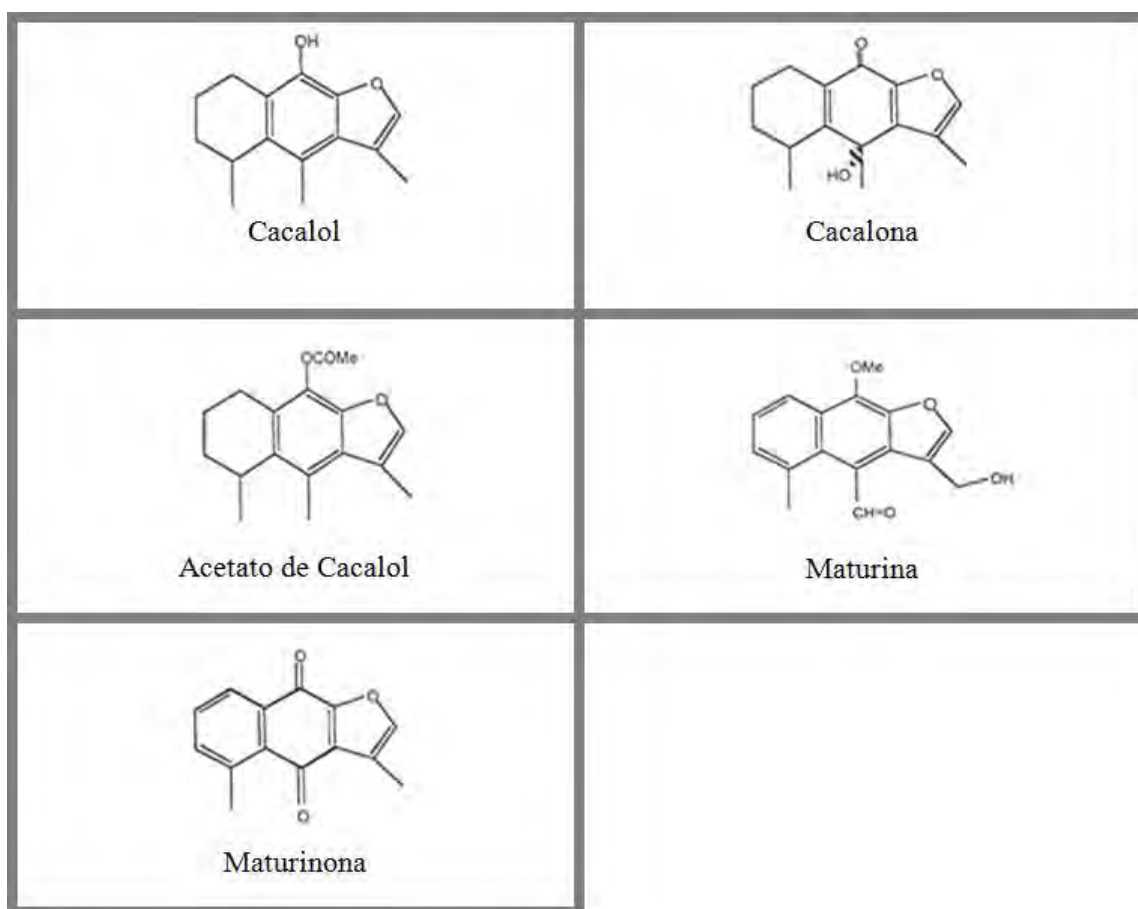


Figura 9. Sesquiterpenoides naturales y transformados de las raíces de *P. decompositum*

(modificado con base en Romo and Joseph-Nathan, 1964; Correa and Romo, 1966)

A principios de la década de los 90, Jiménez-Estrada publicó los primeros trabajos sobre la acción biológica de los componentes de la raíz de *P. decompositum*, en los cuales reconoció a la sustancia denominada cacalol como una de las más activas.

Otros estudios de *P. decompositum* han conducido al aislamiento y estudios estructurales de eremofilanos, los cuales tienen efectos en el crecimiento y desarrollo de *Amaranthus hypocondriacus* y *Echinochloa crusgalli* (Anaya et al., 1996).

Se ha visto que los extractos acuosos de las raíces presentan actividad contra hongos fitopatógenos, principalmente en el crecimiento de *Alternaria*, *Pythium*, *Fusarium* y *Helminthosporium*, de aquí que se le ha propuesto como un herbicida y fungicida selectivo natural (Anaya et al., 1996).

También se ha probado la actividad antimicrobiana de los extractos metanólico, hexánico y de acetato de etilo de la raíz por el método de antibiograma, encontrándose que los extractos tienen efectos sobre bacterias como: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* (Jiménez et al., 1992).

Jiménez y colaboradores en 1992 demostraron que el extracto hexánico de la raíz, en el cual el cacalol es el compuesto más abundante, posee actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*.

8.2 Antecedentes del efecto hipoglucémico de *P. decompositum*

En 1997, Alarcón y colaboradores comprobaron que las decocciones acuosas de las raíces de *Psacalium decompositum* (Gray) H.E. Robins. & Brettell, *Psacalium peltatum* H.B.K. (Cass) y *Acourtia thurberi* (Gray) Reveal & King producen efecto hipoglucémico cuando se administran a ratones normoglucémicos y a conejos con hiperglucemia temporal, lo que sustenta el uso de estas tres especies del complejo matarique en el tratamiento de la diabetes.

Inman y colaboradores (1998) describieron propiedades hipoglucemiantes de la epicacalona, cacalona, cacalol y dimaturina; éstos redujeron significativamente los niveles de glucosa en plasma de ratones genéticamente obesos y diabéticos C57BL-6J ob/ob.

Sin embargo, Alarcón y col. en el año 2000 señalan que al inyectar intraperitonealmente el producto transformado del cacalol (acetato de cacalol) y los sesquiterpenos mayoritarios de la raíz (cacalol, cacalona y maturina) en ratones sanos y con diabetes experimental no se observa efecto hipoglucémico.

Los mismos investigadores indican que el extracto acuoso y las fracciones polares de éste, administrados por vía intraperitoneal, reducen significativamente los niveles de glucosa sanguínea de manera dosis-dependiente en ratones normales y con diabetes inducida con alloxana.

Por otro lado, cabe mencionar los resultados obtenidos con el compuesto peltalosa (Figura 9), un glúcido con actividad hipoglucemiante del tipo ulopiranososa que fue aislado del extracto acuoso de las raíces de *P. peltatum* por Contreras y col. en el 2005; éste mostró efecto a una dosis de 100 mg/kg, equivalente al de una dosis de 50 mg/kg de tolbutamida o 0.1 U.I./kg de insulina en ratones diabéticos por la administración de alloxana.

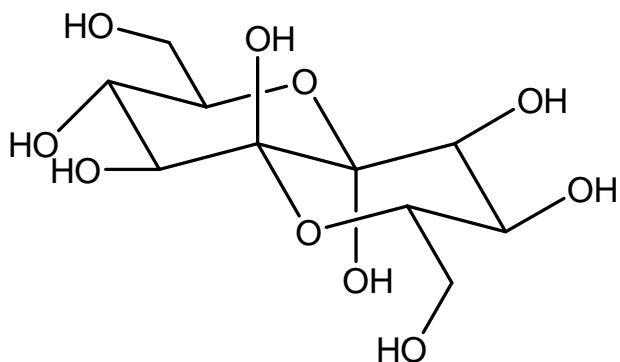


Figura 10. Estructura de la peltalosa (U) aislada de las raíces de *P. peltatum*

Recientemente se estableció que en la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de las raíces de *P. decompositum* participan compuestos tipo polisacárido (Merino, 2005).

9. Modelos experimentales para el estudio de plantas con actividad hipoglucemiante

Muchos modelos en animales han sido utilizados para investigar la eficacia, modo de acción y efectos colaterales de las plantas antidiabéticas y sus principios activos. Debido a la heterogeneidad de las condiciones de diabetes en el hombre, un simple modelo animal no es completamente representativo de un tipo particular de diabetes humana. Por lo tanto, diferentes modelos en animales han sido desarrollados, cada uno con algunas de las características que son observadas en los enfermos con diabetes. El uso de animales sanos (no diabéticos), diabéticos (inducidos experimentalmente), con baja tolerancia a la glucosa e insulino-resistentes (pero no diabéticos), también son utilizados para demostrar la actividad hipoglucemiante y para investigar el posible modo de acción antidiabético de los materiales derivados de plantas (Bailey y Flatt, 1990).

No es extraño que algunas plantas con efecto hipoglucémico en animales no sean efectivas en el hombre y viceversa. Se sabe que entre individuos de una misma especie pueden existir variaciones en la sensibilidad a un mismo agente por diferencias en los parámetros de absorción, distribución, metabolismo y eliminación.

Los modelos animales más utilizados son roedores, por ser económicos con respecto a los mamíferos superiores y, generalmente con valores de glucemia similares a los del ser humano en ayuno (60-100 mg/dL), son más susceptibles de adquirir DM en corto tiempo.

Los roedores son susceptibles a la acción de fármacos diabetógenos como la alloxana y la estreptozotocina (STZ) (Verspohl, 2002; Soumyanath, 2006); sustancias utilizadas ampliamente para producir diabetes experimental.

La alloxana es un compuesto que por su afinidad y eficacia destruye a las células β pancreáticas, produciendo DM experimental con alto grado de reproducibilidad. Sin embargo, también presenta algunas complicaciones, como la imposibilidad en establecer la relación entre la dosis de alloxana y concentración efectiva en el páncreas para desarrollar diabetes; y algunas veces es difícil precisar la concentración adecuada de alloxana que inhiba a las células sin producir necrosis (Takasu et al., 1991).

La estreptozotocina es un compuesto de origen natural aislado del hongo *Streptomyces achromogenes* que causa degeneración de las células β pancreáticas por un mecanismo que podría involucrar una alteración en la función mitocondrial del islote pancreático (Herold et al., 1996). El grado y severidad de la hiperglucemia obtenida con estas sustancias variará dependiendo de la dosis empleada, la vía de administración y el tiempo de exposición a ellas, por lo que es posible inducir experimentalmente diabetes insulino-dependiente o no insulino-dependiente en los animales de prueba (Verspohl, 2002; Soumyanath, 2006).

Otros compuestos diabetógenos son: ácido úrico, ácido dehidroascórbico, algunas quinolonas, 2,4-dinitrofenol, diazóxido, algunas sales de magnesio y hormonas, tales como epinefrina, glucagón, corticotropina, somatotropina y extracto de pituitaria (Takasu et al., 1991)

Una vez comprobada las propiedades hipoglucemiantes de las diferentes sustancias de prueba, la literatura sugiere la realización de ensayos *in vitro* para establecer el o los posibles mecanismos de acción antidiabéticos de los extractos y/o de los compuestos puros (Verspohl, 2002; Soumyanath, 2006).

Los ensayos *in vitro* son más selectivos y específicos que los ensayos *in vivo*. Numerosos ensayos *in vitro* determinan la actividad de distintas enzimas clave en los diferentes procesos metabólicos alterados en la DM, en líneas celulares de músculo esquelético, tejido adiposo e hígado (Verspohl, 2002; Soumyanath, 2006).

Soumyanath en su libro del 2006, revisa de manera detallada la metodología empleada para el descubrimiento de nuevos agentes antidiabéticos de origen natural, así como el impacto de las plantas medicinales para el tratamiento de la diabetes en México y otras regiones del mundo.

10. Planteamiento del problema

No existe tratamiento curativo como tampoco control idóneo para la diabetes mellitus. La presentación y evolución de complicaciones fatales son inevitables, por lo que representa uno de los más grandes problemas de salud pública a nivel mundial. Es una enfermedad crónico-degenerativa, que afecta de manera grave a la economía nacional, por la incapacidad laboral que produce a quienes la padecen. Ante esta realidad, se debe reconocer que los tratamientos existentes (dietas, biguanidas, sulfonilureas e insulina, principalmente) no han resultado completamente exitosos y la búsqueda de nuevos tratamientos continúa vigente.

Entre los tratamientos de última generación podemos citar: el transplante segmentario y total de páncreas, el injerto de células y la implantación de páncreas artificial. Sin embargo, por los altos costos no se encuentran al alcance de la mayoría de los pacientes diabéticos que, como alternativa o complemento de la medicina convencional, recurren a la medicina tradicional a su alcance.

La terapéutica con plantas medicinales en la mayoría de los casos no ha sido validada científicamente y su uso conlleva la posibilidad de ingerir compuestos con efectos terapéuticos, así como con efectos indeseables. Por otra parte, las plantas han sido y continúan siendo fuente de nuevos fármacos. *Psacalium decompositum* es una de las plantas más empleadas en México para el control de la DM tipo 2 y se tienen evidencias experimentales del efecto antidiabético de su raíz. Estas dos razones la hacen candidata idónea para ser investigada farmacológica y químicamente con el propósito de aislar e identificar la o las sustancias responsables del efecto hipoglucémico.

Resultados favorables en esta dirección permitirían desarrollar un nuevo fármaco y establecer un sustento científico para este recurso medicinal cuando se emplea como remedio tradicional antidiabético.

11. Objetivo General

Aislar e identificar los polisacáridos con efecto hipoglucémico de la raíz de *Psacalium decompositum*.

11.1 Objetivos Específicos

- a) Obtener el extracto hexánico de la raíz de *Psacalium decompositum*, luego macerarla con agua para obtener el extracto acuoso y a éste fraccionarlo con MeOH.
- b) Evaluar el efecto hipoglucémico de la fracción insoluble en MeOH del extracto acuoso (EAIM) y del extracto acuso soluble en metanol (EASM) en ratas sanas.
- c) Evaluar el extracto acuoso insoluble en MeOH (EAIM) en ratones sanos
- d) Fraccionar el EAIM, obtener las fracciones polares y evaluar su efecto hipoglucémico en ratones con diabetes inducida.
- e) Identificar la presencia de polisacáridos en las fracciones activas a través de técnicas cromatográficas y espectrométricas.
- f) Determinar el efecto hipoglucémico de la (s) fracción (es) rica (s) en polisacáridos.
- g) Aislar el o los compuestos responsables de la acción hipoglucemiante y proponer su estructura química por medio de técnicas espectroscópicas (RMN, IR y EM)

12. Hipótesis

El extracto acuoso obtenido de la raíz de *Psacalium decompositum* contiene al menos un compuesto hipoglucemiante de naturaleza polisacárida.

13. Materiales y métodos

Para cumplir con los objetivos planteados en esta tesis, la estrategia experimental se planeó en dos etapas: estudios fitoquímicos y pruebas de actividad biológica con *P. decompositum* en animales

13.1 Instrumentación

Los compuestos que se obtuvieron del extracto acuoso de las raíces se enviaron para su análisis al laboratorio de Resonancia del Instituto de Química, UNAM.

- El espectro de masas por impacto electrónico (EM) se determinó por inducción directa de la muestra, en un aparato marca Jeol modelo JMS-SX102A.
- El espectro de infrarrojo (IR) se determinó en un espectrofotómetro Nicolet Magna FT-IRSX en solución de cloroformo o con otras técnicas. Las señales se reportan en cm^{-1}
- Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y de carbono (RMN ^1H y ^{13}C) se determinaron con equipos Varian Unity Plus de 300 y 500 MHz, empleando como disolvente agua deuterada (D_2O) y como referencia interna se utilizó tetrametilsilano (TMS). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm).
- Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF), tanto analíticos como preparativos, se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de aluminio o vidrio recubiertas de sílica gel (Sílica gel 60 Alugram SIL G/UV₂₅₄);

de fase reversa (Sílica gel Alugram RP-18W/UV₂₅₄) y de Sílica gel aminadas específicas para visualizar glúcidos (Cassani, 1997) empleando varios eluyentes.

- Cromatografía en columna abierta, como fase estacionaria se empleó Sephadex LH20 usando una columna de cromatografía a presión media marca Buchi modelo B-688 y como fase móvil combinaciones de distintos eluyentes.

13.2 Material vegetal

Las raíces de la planta se adquirieron en el mercado de Sonora de la Ciudad de México (1470 g, peso seco). La identificación taxonómica de la planta fue determinada empleando claves taxonómicas y comparándola con ejemplares encontrados en el herbario de Plantas Medicinales del Instituto Mexicano del Seguro Social (Herbario IMSSM, No. 11489).

14. Obtención de los extractos de la raíz de *Psacalium decompositum*.

La raíz de *P. decompositum* (1.4 Kg.) seca y fragmentada se maceró a temperatura ambiente con hexano (7 L/24 h /3 veces) con el fin de extraer los compuestos menos polares. Posteriormente, al material vegetal residual se le agregó agua a temperatura ambiente (7 L/24 h /3 veces). El agua se dejó evaporar a la temperatura del laboratorio en recipientes de superficie amplia, con la ayuda de ventiladores diseñados en el laboratorio (Figuras 11 y 12) durante una semana, evitando calentar el extracto, a continuación el extracto seco se raspó con un bisturí, obteniendo un residuo sólido amorfo, con una coloración café oscura y con un olor que no se pudo precisar. La extracción con agua se repitió tres veces y se obtuvieron 4 extractos más, pesando el 1º 15 g, el 2º 8 g, el 3º 6 g y el 4º 3 g.

Los extractos resultantes se maceraron con MeOH (100 ml/1 h/10 veces), con el propósito de extraer los compuestos de baja y/o mediana polaridad y dejar en la parte soluble en agua sólo los compuestos más polares (Diagrama 1).



Figura 11. Dispositivo diseñado en el laboratorio para acelerar la evaporación de los disolventes



Figura 12. Dispositivo diseñado en el laboratorio para acelerar la evaporación de los disolventes

Con este procedimiento, se obtuvieron dos extractos, uno sólido café que ya no fue soluble en MeOH, sólo en agua (EAIM) y el extracto acuoso soluble en MeOH (EASM), que al eliminar el disolvente, quedó un semilíquido de color café, a estos extractos se les evaluó el efecto hipoglucémico en ratas sanas (Diagrama 1).

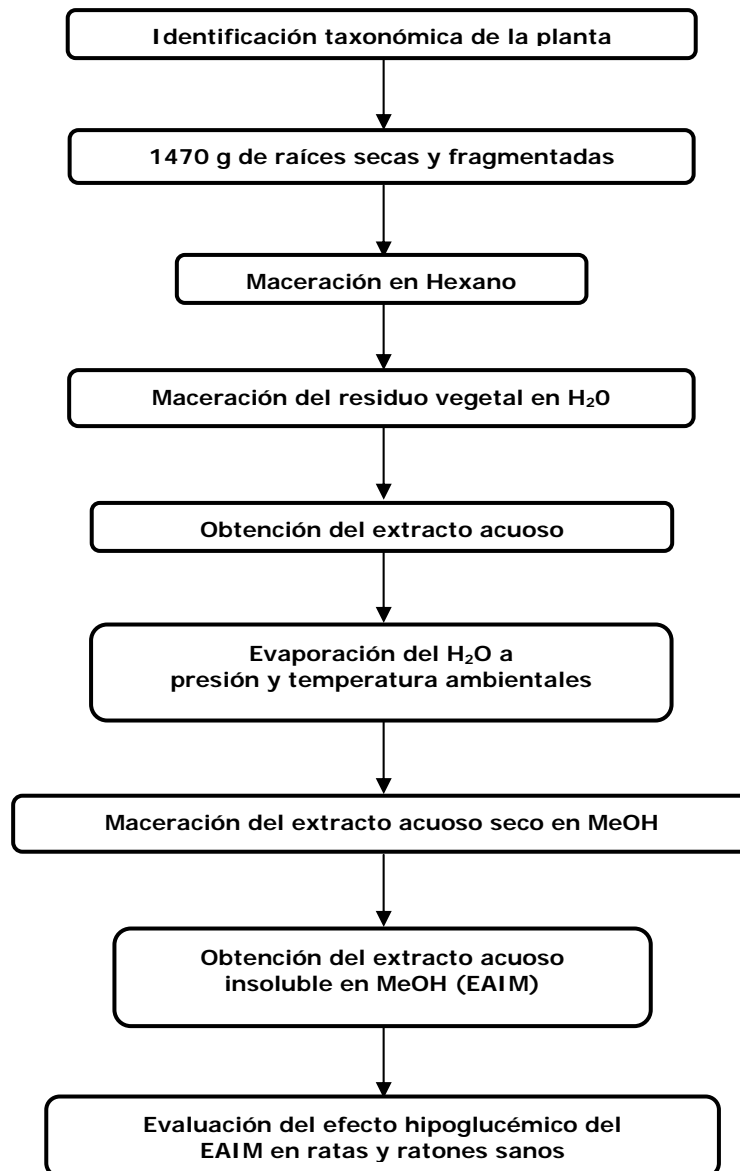


Diagrama 1. Procedimiento para la obtención del extracto acuoso insoluble en MeOH (EAIM) de las raíces de *P. decompositum*

14.1 Obtención de los extractos de las raíces de *P. decompositum* con EtOH/H₂O (70:30) y agua-directo.

Se pesaron 200 g de la raíz se maceraron en H₂O destilada hasta cubrirlos a temperatura ambiente (1 L/24 h /3 veces). Otros 200 g se maceraron en una solución acuosa-alcohólica EtOH/H₂O 70:30 (v/v) hasta cubrirlos, a temperatura ambiente (1 L/24 h /3 veces) Diagrama 2.

La evaporación de los disolventes fue con el método antes descrito; en la maceración sólo en agua se obtuvo un residuo sólido similar a los antes mencionados. En lo que respecta a la maceración acuoso-alcohólica, se obtuvo un residuo amorfo de color rojizo con consistencia de caramelo. A los extractos resultantes, también se les maceró en MeOH; en el acuoso directo (A) se obtuvo el EAIM, el extracto acuoso-alcohólico (ETA) se tornó semilíquido y no volvió a tener consistencia sólida. A ambos extractos se les evaluó el efecto hipoglucémico en ratones sanos (Diagrama 2).

14.2 Extracción líquido-líquido del extracto acuoso insoluble en MeOH (EAIM).

Para purificar los compuestos presentes en el extracto más activo, se hizo la extracción líquido-líquido del EAIM de la siguiente manera: se preparó una mezcla de acetonitrilo/agua 9:1 (v/v). Se agregaron 20 mL de esta solución (9:1) a 2 g del extracto café (EAIM) en un matraz Erlenmeyer y se pusieron en agitación magnética durante una hora. Después se decantó el líquido y quedó un sólido, entonces al sólido se le agregaron otros 20 mL de la mezcla de disolventes, se agitaron durante una hora se volvió a decantar y se repitió por tercera vez la operación. La parte líquida quedaba con un ligero color amarillo-naranja, quedando al final un residuo café 1.2g (A1) (Diagrama 3).

A otros 2 g del EAIM se le hicieron las tres extracciones de igual forma, sólo con acetonitrilo y se obtuvo un sólido café (A2) (1.5g). A los dos residuos A1 y A2 se les hicieron las pruebas biológicas y sus determinaciones espectroscópicas (Diagrama 3).

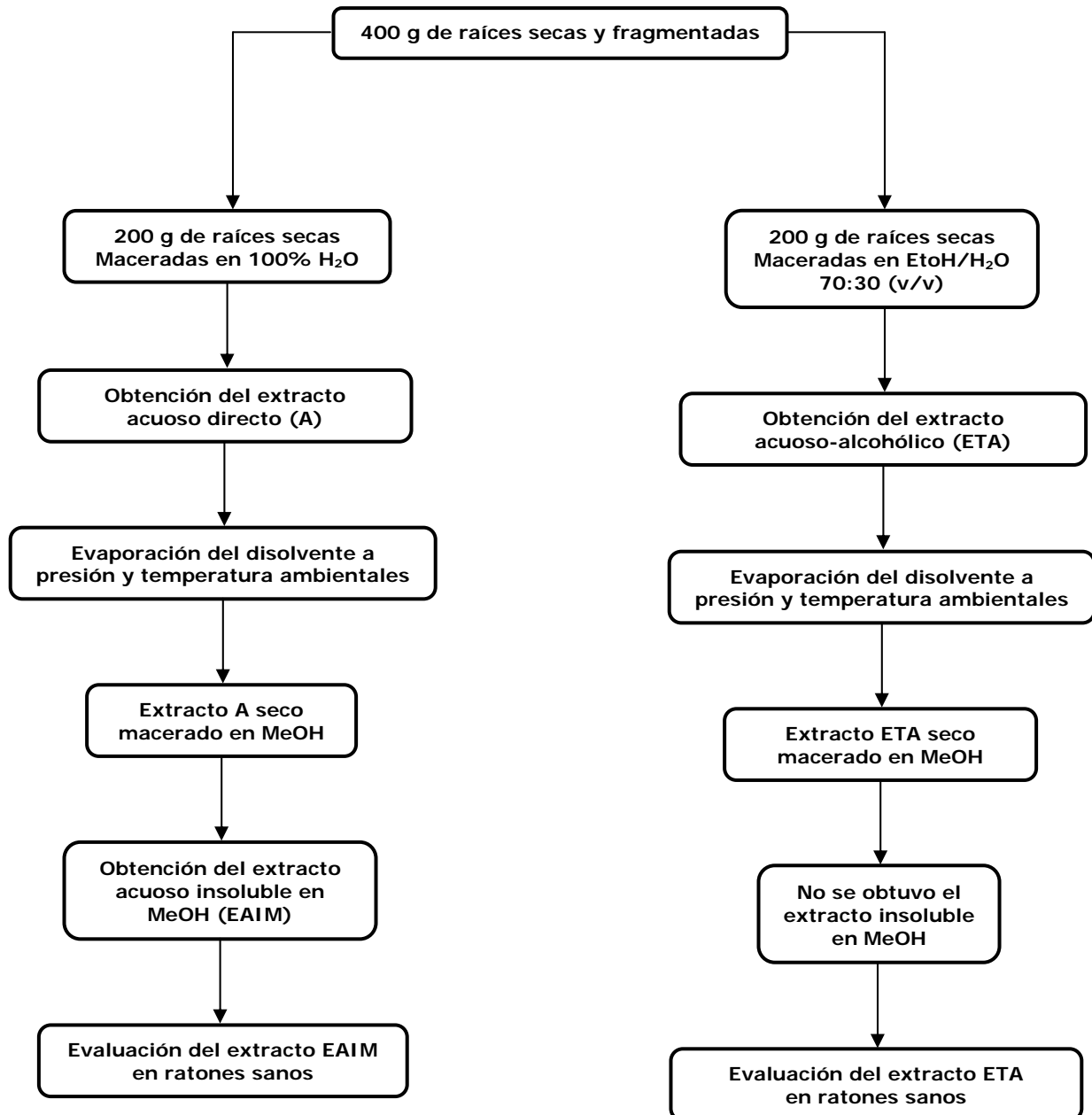


Diagrama 2. Procedimiento para la obtención del extracto acuoso directo (A) y el extracto acuoso-alcohólico (ETA) de las raíces de *P. decompositum*

14.3 Fraccionamiento y separación de los extractos activos

Se empleó la cromatografía en columna (CC) usando Sephadex LH20 como fase adsorbente y una combinación de H₂O-MeOH 70:30 (v/v) como fase móvil (Diagrama 3).

El seguimiento de los compuestos se llevó a cabo por CCF en placas cromatográficas de sílica gel 60 Alugram SIL G/UV₂₅₄ fase normal y de sílica gel Alugram RP-18W/UV₂₅₄ para fase reversa. Las placas fase normal se impregnaron con una mezcla de dietanolamina 0.1 M y 10 mM de ácido acético en acetonitrilo, activadas a temperatura ambiente por una hora. La fase móvil fue acetonitrilo/H₂O 80:20 (v/v).

El revelado de las placas se realizó rociándolas con una solución de 4% de α -naphthol en etanol, ácido sulfúrico y agua 80:10:10 (v/v) específica para visualizar glúcidos, colocándolas en una plancha de calentamiento a 100°C (Cassani, 1997).

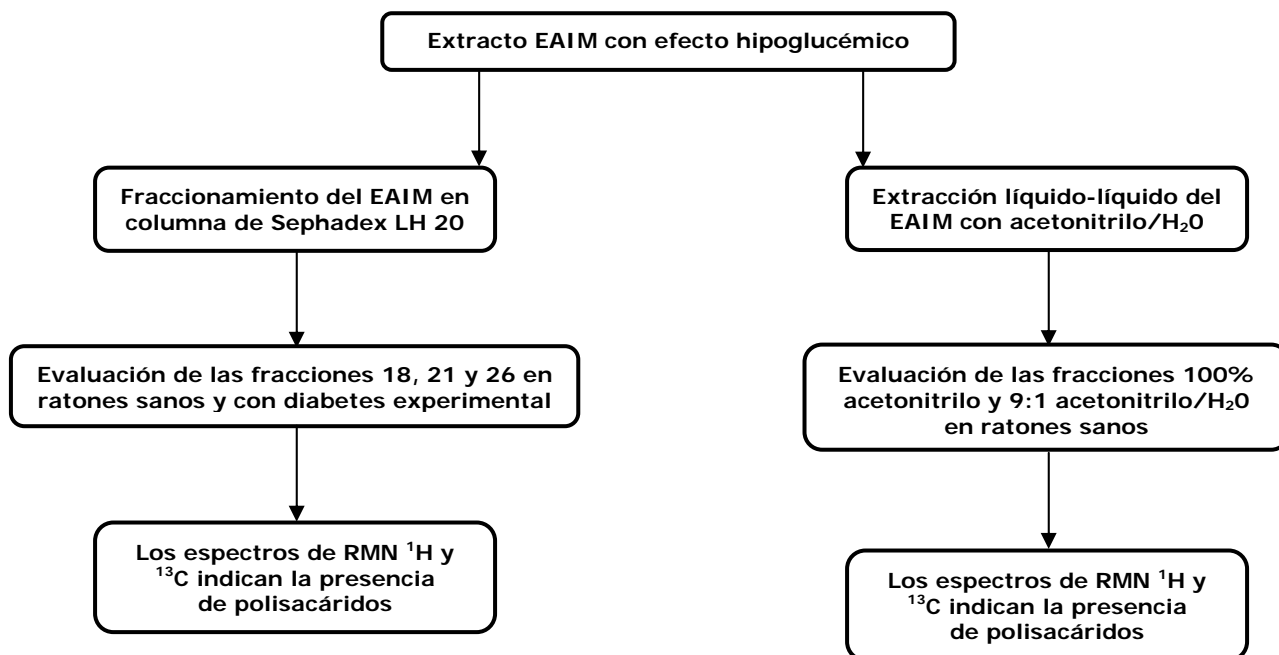


Diagrama 3. Procedimiento para la obtención de las fracciones del EAIM en Sephadex LH20 y extracción líquido-líquido con acetonitrilo y acetonitrilo/H₂O.

15. Animales experimentales

En la primera valoración se emplearon 15 ratas Wistar machos (86 – 105 g) obtenidas del bioterio de la Facultad de Medicina (UNAM), bajo condiciones estándar. Previo al ensayo, los animales fueron sometidos a un periodo de ayuno de 22 h (agua *ad libitum*).

En el segundo ensayo se utilizaron 42 ratones *Mus musculus*, machos, cepa CD1, maduros sexualmente, con un peso promedio de 35 ± 5.0 g y con alimento y agua *ad libitum*, proporcionados por el bioterio de la UAM Iztapalapa, en donde fueron mantenidos bajo condiciones ambientales controladas de luz y temperatura.

15.1 Ensayos biológicos

Con las ratas se formaron tres grupos de 5 animales, a cada grupo se le asignó un tratamiento: a) Extracto Acuoso Insoluble en MeOH (EAIM), b) Extracto Soluble en MeOH (EASM) y Solución Salina al 0.9% (SS, control negativo). Los extractos EAIM y EASM, disueltos en solución fisiológica, se administraron en una dosis única de 310 mg/kg, vía intraperitoneal.

Se registró una lectura de la concentración de glucosa basal previo a la administración de los tratamientos. Enseguida se administraron los diferentes tratamientos, según el grupo, y a partir de entonces se midieron los niveles de glucosa. Las mediciones se hicieron en cinco tiempos diferentes: 30, 60, 120, 240 y 480 minutos.

Se obtuvieron muestras de sangre a través de un corte en la punta de la cola y se cuantificaron los niveles glucosa (mg/dl) con tiras reactivas por el método de la enzima glucosa deshidrogenasa y un glucómetro Accu-Chek Sensor Comfort (Roche).

En el ensayo con ratones se formaron seis grupos de 7 animales cada uno y se les asignó un tratamiento de 300, 150, 75 y 34.5 mg/kg del EAIM y SS como control negativo. Las dosis fueron disueltas en solución fisiológica y se administraron por vía intraperitoneal a razón de 4 ml/kg.

Se registró una lectura de la concentración de glucosa basal ($t=0$) previo a la administración de las dosis y a partir de entonces se midieron los niveles de glucosa. Las mediciones se hicieron en cuatro tiempos diferentes: 120, 240, 360 y 480 minutos. Se obtuvieron las muestras de sangre de la vena caudal por punción de la cola y se cuantificaron los niveles de glucosa (mg/dl) con tiras reactivas por el método anteriormente descrito.

16. Análisis estadístico

Los resultados se expresan con la media \pm el error estándar de la media (E.E.M.); para determinar diferencias estadísticas en cada tiempo de registro se compararon las medias de los grupos tratados y del grupo control a través de un análisis de varianza (ANOVA). Para determinar qué medias de los grupos tratados con el extracto son estadísticamente significativas con respecto a la media del grupo control, se realizó una prueba de Dunnett. Los valores de P iguales o menores a 0.05 fueron considerados significativos.

17. Resultados

Se midió el efecto hipoglucémico de los extractos obtenidos: extracto acuoso (hexánico) insoluble en MeOH (EAIM) y del extracto acuoso (hexánico) soluble en MeOH (EASM) midiendo los niveles de glucosa en sangre y usando SS como control negativo.

17.1 Comparación de los extractos

Se comparó el efecto hipoglucémico del EAIM y el EASM (Tabla 5).

El EAIM administrado en dosis de 310 mg/kg mostró una reducción significativa en la glucemia de ratas sanas a los 240 min ($F = 4.34$; $P < 0.05$), continuando con esta tendencia a los 480 min ($F = 4.65$; $P < 0.05$).

Tabla 5. Efecto del EAIM y el EASM obtenidos de la raíz de *P. decompositum* en los niveles de glucosa sanguínea en ratas sanas ^{a b}.

| Estudio | n | Dosis mg/kg | Glucosa sanguínea (mg/dl), Media \pm E.E.M. | | | | | |
|----------------------------------------------|---|----------------|-----------------------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | | | Inicial | 30 min. | 60 min. | 120 min. | 240 min. | 480 min. |
| Control (SS) | 5 | 0 | 55.4 \pm 3.6 | 57.4 \pm 4.03 | 61.4 \pm 4.55 | 59 \pm 2.56 | 54.4 \pm 2.69 | 56.4 \pm 2.96 |
| Extracto Acuoso Insoluble en MeOH EAIM | 5 | 310 | 54 \pm 3.16 | 72.2 \pm 5.61 | 71 \pm 4.47 | 67.2 \pm 11.08 | 22.4 \pm 9.1* ^{&} | 20.2 \pm 11.2* ^{&} |
| Extracto Acuoso Soluble en MeOH EASM | 5 | 310 | 51.6 \pm 5.68 | 62.2 \pm 4.46 | 66 \pm 5.81 | 66.4 \pm 3.34 | 44.6 \pm 9.78 | 51.4 \pm 10.68 |

^a Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la glucemia inicial [&] $P < 0.001$

^b Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control * $P < 0.05$.

Los EAIM y EASM no mostraron efecto en los niveles de glucosa en sangre en los primeros tiempos evaluados (30, 60 y 120 min) ($P > 0.695$). Sin embargo, estos extractos originan reducciones significativas con respecto al grupo control a partir de las 2 últimas muestras (240 y 480 min; $P < 0.05$).

Al hacer la comparación de las medias de los grupos con respecto a la glucosa inicial observamos que el EASM y la SS no presentan diferencias significativas en ningún tiempo, en cambio el grupo tratado con el EAIM generó diferencias significativas en relación a su glucemia inicial desde los 240 min ($F = 8.82$; $P < 0.001$) permaneciendo este efecto hasta los 480 min.

17.2 Comparación de las dosis del EAIM

Al observar que el EAIM genera descenso significativo en los niveles de glucosa sanguínea, se procedió a continuar trabajando con éste, tratando de establecer una relación dosis-dependiente en ratones sanos. Las diferentes dosis (300, 150, 75 y 37.5 mg/kg) fueron administradas también por vía intraperitoneal.

Haciendo la comparación de las medias de glucosa inicial de los grupos tratados con las diferentes dosis, podemos observar que la dosis de 37.5 mg/kg presenta diferencias significativas desde los 120 min ($F = 8.23$; $P < 0.001$); la dosis de 75 mg/kg generó diferencias significativas en relación a su glucemia inicial a partir de los 240 min ($F = 8.96$; $P < 0.001$). Podemos observar que la dosis de 150 mg/kg no causó diferencias significativas en ningún tiempo y la dosis de 300 mg/kg originó diferencias en los tres últimos tiempos (240, 360 y 480) ($F = 8.61$; $P < 0.001$) (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto de diferentes dosis del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones sanos^{a b}

| Estudio | n | Dosis mg/kg | Glucosa sanguínea (mg/dl), media ± E.E.M. | | | | |
|---------------|---|----------------|-------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | | | Inicial | 120 min. | 240 min. | 360 min. | 480 min. |
| Control (SS) | 7 | 0 | 87 ± 6.73 | 60.1 ± 1.9 | 68.5 ± 6.3 | 61.8 ± 5.73 | 79.8 ± 5.01 |
| Extracto EAIM | 7 | 37.5 | 87.7 ± 4.48 | 55.2 ± 4.33 ^{&} | 54 ± 5.64 ^{&} | 54.8 ± 6.71 ^{&} | 60.5 ± 3.02 ^{*&} |
| | 7 | 75 | 79.8 ± 9.52 | 86.1 ± 9.64 | 44.5 ± 2.35 ^{*&} | 43 ± 2.24 ^{*&} | 57.4 ± 5.18 ^{*&} |
| | 7 | 150 | 74.7 ± 7.6 | 76.7 ± 12.66 | 48.8 ± 5.63 [*] | 49.7 ± 3.77 | 59.4 ± 5.6 [*] |
| | 7 | 300 | 84.4 ± 6.98 | 89.4 ± 11.52 | 55.4 ± 5.27 ^{&} | 46.8 ± 2.7 ^{&} | 50.8 ± 3.85 ^{*&} |

^a Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la glucemia inicial [&] $P < 0.001$.

^b Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control ^{*} $P < 0.05$.

Las dosis que mostraron diferencia significativa comparada con la glucemia de los controles, son las dosis de 75 y 150 mg/kg a partir de los 240 min ($F = 3.49$; $P < 0.05$); la dosis de 75 mg/kg no mostró efecto sobre la glucosa sanguínea a los 360 min ($F = 6.38$; $P < 0.05$). En el último tiempo (480 min) todas las dosis del EAIM muestran diferencias significativas comparando las glucemias con el grupo control ($F = 9.08$; $P < 0.05$), siendo la más contundente la dosis de 300 mg/kg (Tabla 6).

17.3 Evaluación de las fracciones polares del EAIM

Con base en los resultados mostrados en la administración de las distintas dosis del EAIM, se procedió a realizar un fraccionamiento en columna cromatográfica a presión media empleando Sephadex LH20 como fase estacionaria y una combinación de H₂O-MeOH 70:30 (v/v) como fase móvil, obteniendo 27 fracciones.

Así mismo, se monitorearon estas fracciones por medio de Cromatografía en Capa Fina (CCF) con los métodos específicos para la detección de azúcares y se llevó a cabo un ensayo con diferentes fracciones para evaluar su efecto hipoglucémico.

Las distintas fracciones se administraron en ratones sanos a una dosis de 150 mg/kg, empleando H₂O destilada como control negativo (Tabla 7). En primer lugar se observó que la fracción 16 sólo produjo descenso en la primera toma de muestra sanguínea ($F = 4.86$; $P < 0.05$). La fracción 18 tuvo un efecto a partir de los 120 min, conservándose hasta los 360 min ($F = 6.78$; $P < 0.05$). Con respecto a la fracción 21, ésta provocó un descenso en la glucemia a partir de los 240 min hasta el final de la toma de muestras ($F = 4.72$; $P < 0.05$). La fracción 23 sólo mostró efecto sobre la glucosa a los 360 min ($F = 7.86$; $P < 0.005$). Por último la fracción 26 causó efecto a los 240 y 360 min ($F = 12.36$; $P < 0.001$).

Tabla 7. Efecto de las fracciones polares obtenidas del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones sanos ^a

| Estudio | n | Dosis | Glucosa sanguínea (mg/dl), media \pm E.E.M. | | | |
|----------------------------|---|-------|-----------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | | | mg/kg | Inicial | 120 min. | 240 min. |
| Control (H ₂ O) | 4 | 0 | 63.5 \pm 5.83 | 61.7 \pm 7.4 | 65 \pm 1.6 | 56 \pm 4 |
| Fracción 16 | 4 | 150 | 62.7 \pm 4.25 | 49 \pm 2.64 ^{&} | 65.5 \pm 3.92 | 53.7 \pm 2.86 |
| Fracción 18 | 4 | 150 | 62 \pm 2.67 | 43.2 \pm 2.86 ^{&} | 51.2 \pm 3.79 ^{&*} | 51.7 \pm 2.25 ^{&} |
| Fracción 21 | 4 | 150 | 65.7 \pm 2.28 | 53.2 \pm 3.81 | 45.2 \pm 4.76 ^{&*} | 48.7 \pm 5 ^{&} |
| Fracción 23 | 4 | 150 | 71.7 \pm 4.11 | 82 \pm 6.79 | 58 \pm 2.79 | 49.2 \pm 6 ^{&} |
| Fracción 26 | 4 | 150 | 66.7 \pm 7.68 | 72.7 \pm 5.1 | 45.7 \pm 1.37 ^{&*} | 38 \pm 1.41 ^{&*} |

^a Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la glucemia inicial [&] $P < 0.05$.

^b Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control ^{*} $P < 0.05$.

En lo que respecta a la comparación de medias de los grupos con tratamiento, sólo las fracciones 18, 21 y 26 son las que presentaron una diferencia significativa en relación a la glucemia de los controles, estas fracciones mostraron una diferencia significativa con respecto a la glucemia del grupo control a los 240 min ($F = 7.63$; $P < 0.001$) y solamente la fracción 26 conservó la diferencia significativa a los 360 ($F = 2.55$; $P < 0.05$).

Teniendo en cuenta el efecto mostrado por estas 3 fracciones en ratones sanos, se decidió realizar un ensayo en animales con diabetes experimental inducida con una dosis de STZ (150 mg/kg) por vía intraperitoneal, esperando 15 días a que los animales mostraran niveles elevados de glucemia. En el ensayo en ratones con diabetes experimental se comprobó que las fracciones 21 ($F = 3.48$; $P < 0.05$) y 26 ($F = 4.52$; $P < 0.05$) conservan el efecto hipoglucémico en relación a la glucemia inicial, ambas fracciones lo mostraron a los 360 min con respecto a la glucemia del grupo control, todas las fracciones mostraron efecto a las 360 min ($F = 34.11$; $P < 0.001$) (Tabla 8).

Tabla 8. Efecto de las fracciones polares obtenidas del EAİM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones con diabetes experimental ^{a b}

| Estudio | n | Dosis mg/kg | Glucosa sanguínea (mg/dl), media \pm E.E.M. | | | |
|--------------|---|----------------|-----------------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|
| | | | Inicial | 120 min. | 240 min. | 360 min. |
| Control (SS) | 4 | 0 | 553.2 \pm 27 | 530.5 \pm 36 | 420.8 \pm 105 | 559 \pm 17 |
| Insulina | 4 | 0.75 U.I. | 335.8 \pm 89 | 40.2 \pm 30 | 46.7 \pm 36 | 61.7 \pm 51 |
| Fracción 18 | 4 | 150 | 353.8 \pm 41 | 328.2 \pm 103 | 324.8 \pm 67 | 179.5 \pm 49* |
| Fracción 21 | 4 | 150 | 375.2 \pm 89 | 354.5 \pm 83 | 249 \pm 61 | 93.5 \pm 14 ^{&*} |
| Fracción 26 | 4 | 150 | 384.5 \pm 103 | 305 \pm 13 | 187.5 \pm 32 | 84 \pm 27 ^{&*} |

^a Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la glucemia inicial & $P < 0.05$

^b Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control * $P < 0.001$

Al observar que la fracción 26 tuvo un efecto muy parecido al de la insulina al minuto 360, determinamos hacer otro experimento sólo con esta fracción. La fracción 26 muestra un efecto contundente a partir de los 120 min ($F = 26.26$; $P < 0.001$) y continúa a las 24 h después de haber sido administrada en los ratones con diabetes inducida (Tabla 9).

Tabla 9. Efecto de la fracción 26 obtenida del EAIM en los niveles de glucosa sanguínea en ratones con diabetes experimental^{a b}

| Estudio | n | Dosis | Glucosa sanguínea (mg/dl), media \pm E.E.M. | | | | |
|--------------|---|-----------|-----------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| | | | mg/kg | Inicial | 120 min. | 240 min. | 360 min. |
| Control (SS) | 4 | 150 | 275.2 \pm 72 | 147 \pm 30 | 141 \pm 29 | 160.8 \pm 20 | 274 \pm 53 |
| Insulina | 4 | 0.75 U.I. | 418.5 \pm 65 | 254.5 \pm 47 | 239.5 \pm 58 | 306.2 \pm 66 | 434.5 \pm 64 |
| Fracción 26 | 4 | 150 | 467.8 \pm 27 | 270 \pm 56 ^{&} | 134.2 \pm 30 ^{&} | 105.2 \pm 7 ^{*&} | 41.2 \pm 23 ^{*&†} |

^a Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la glucemia inicial [&] $P < 0.001$

^b Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control ^{*} $P < 0.05$

[†] 2 animales murieron a las 24 h

17.4 Evaluación de la 2^a, 3^a y 4^a extracción acuosa

Por otro lado, para comprobar que las demás extracciones acuosas de la raíz conservan el efecto hipoglucémico, se llevó a cabo un ensayo en ratones sanos con la 2^a, 3^a y 4^a extracción acuosa de la raíz de *P. decompositum*, que fueron también maceradas con MeOH para eliminar la presencia de compuestos poco polares y favorecer la separación de los polisacáridos.

En este ensayo sólo se tomaron muestras al tiempo 0, a los 240 y 360 min, ya que con base en los estudios anteriores se determinó que en estos tiempos se observa el efecto sin lugar a dudas, sin embargo en ninguna de estas fracciones se pudo observar efecto en ninguno de los tiempos antes señalados, aunque también existen tendencias a la baja en la 2ª y 3ª extracción acuosa (Tabla 10).

Tabla 10. Efecto de las extracciones acuosas de la raíz de *P. decompositum* maceradas en MeOH en los niveles de glucosa en ratones sanos

| Estudio | n | Dosis mg/kg | Glucosa sanguínea (mg/dl), media \pm E.E.M. | | |
|---------------|---|----------------|-----------------------------------------------|---------------|---------------|
| | | | Inicial | 240 min. | 360 min. |
| Control (SS) | 4 | 0 | 60 \pm 2 | 58.2 \pm 4 | 58 \pm 5 |
| 2ª Extracción | 4 | 150 | 74 \pm 6 | 49.5 \pm 5 | 36.2 \pm 15 |
| 3ª Extracción | 4 | 150 | 66.5 \pm 4 | 61 \pm 3 | 42.2 \pm 11 |
| 4ª Extracción | 4 | 150 | 67.7 \pm 11 | 68.2 \pm 15 | 71.7 \pm 20 |

17.5 Evaluación de extracción líquido-líquido (acetonitrilo-agua)

De la extracción líquido-líquido del EAIM, con una combinación de disolventes acetonitrilo/H₂O (9:1) y acetonitrilo, que se eligieron porque fueron los disolventes empleados como fase móvil de la CCF específica para visualizar azúcares, este procedimiento contribuyó a la purificación los polisacáridos presentes en el EAIM.

Los residuos A1 y A2 se administraron en ratones sanos a una dosis de 300 mg/kg, empleando H₂O destilada como control negativo (Tabla 11). En primer lugar se observó que el residuo A2 macerado en acetonitrilo al 100% tuvo un efecto hasta los 360 min, (F = 5.06; *P* < 0.05) con respecto a la glucemia inicial.

El extracto A1 macerado con la combinación 90-10% acetonitrilo/H₂O generó un descenso a partir de los 240 min, conservándolo hasta la última toma de sangre (360 min) ($F = 3.90$; $P < 0.05$) en relación a la glucemia inicial.

Tabla 11. Efecto de los residuos obtenidos del EAIM macerado en acetonitrilo y acetonitrilo/H₂O (9:1) en los niveles de glucosa sanguínea en ratones sanos^{a b}

| Estudio | n | Dosis mg/kg | Glucosa sanguínea (mg/dl), media \pm E.E.M. | | | |
|-----------------------------------------------|---|----------------|-----------------------------------------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | | | Inicial | 120 min. | 240 min. | 360 min. |
| Control (H ₂ O) | 4 | 0 | 59 \pm 5 | 51.5 \pm 2 | 52.5 \pm 4 | 53.7 \pm 4 |
| 90-10% acetonitrilo/H ₂ O A1 | 4 | 300 | 54.2 \pm 2 | 48.2 \pm 4 | 41.7 \pm 4 ^{&} | 39.5 \pm 2 ^{&*} |
| 100% acetonitrilo A2 | 4 | 300 | 50.7 \pm 2 | 46 \pm 2 | 43.5 \pm 2 | 36 \pm 3 ^{&*} |

^a Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la glucemia inicial [&] $P < 0.05$

^b Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control ^{*} $P < 0.05$

Por último, cabe destacar que ambos residuos presentan una diferencia estadísticamente significativa a los 360 min sobre los niveles de glucosa final en comparación con los niveles de glucosa final del grupo control ($F = 7.96$; $P < 0.05$), lo cual confirma que en los extractos más polares se encuentran los compuestos responsables del efecto hipoglucémico del extracto acuoso de la raíz de *P. decompositum*.

18. Resultados Espectroscópicos (Anexo 1)

Se realizaron los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en D₂O, de ¹H y de ¹³C del EAIM (Espectros 1, 2, 3), de las fracciones activas (Espectros 4, 5, 6) y del residuo A1 activo de la extracción líquido-líquido (Espectros 7, 8 ,9) Como puede observarse en todos ellos las señales indican la presencia de carbohidratos. Pero los espectros 7, 8 y 9 nos muestran ya la presencia del polisacárido anteriormente obtenido (Anexo 1).

Con respecto al espectro de ¹H del residuo A1 obtenido de la extracción líquido-líquido, éste muestra señales que pertenecen principalmente a la fructosa, las señales en 4.25 ppm corresponden a los hidrógenos en la posición 3 y 4 de las unidades de fructosa de las posición inicial y final, los hidrógenos en la misma posición de las unidades intermedias, se encuentran en los (*m*) de 4.2 a y 3.8 ppm. Los hidrógenos de las posiciones 1 y 6 se encuentran en los (*m*) situados desde 3.8 a 3.6 ppm y las señales para el hidrógeno en la posición 2 estarían en 3.9 ppm (espectro 7).

Esta interpretación se fundamenta con el análisis de ¹³C, en donde vemos señales para los carbonos de las posiciones 3 y 4 en 81 y 77 ppm, el carbono 2 muestra señales que observamos a 75 ppm. Estas asignaciones se sustentan en el experimento de DEPT, en dónde estas señales indican carbonos unidos a un solo hidrógeno, los carbonos 1 y 6 que presentan 2 hidrógenos los encontramos desplazados a 62 y 61 ppm. Las señales de menor intensidad corresponden a los carbonos iniciales y terminales de las unidades de fructosa (espectros 8 y 9).

También la presencia de glucosa se confirmó, debido a las señales en 64 ppm correspondientes a su carbono 6, las señales que van de 69 a 73 ppm indican la posición del carbono 5, en lo que respecta al carbono en la posición anomérica (C1) éste se encuentra a 93 ppm. El desplazamiento de estos carbonos indica la unión en la posición 6 con las unidades de fructosa (espectros 8 y 9).

19. Discusión

En el mundo, para el tratamiento y/o control de la diabetes se tiene documentado el empleo de plantas medicinales (hojas, tallos, corteza, raíces, etc.), siendo los extractos acuosos los más empleados y en ellos se han encontrado e identificado oligosacáridos y polisacáridos con actividad hipoglucemiante como son los obtenidos de *Panax ginseng* C.A. Mey., *Dioscorea japonica* Thunb., *Lithospermum erythrorhizon* Siebold & Zucc., *Anemarrhena asphodeloides* Bunge., *Trichosanthes kirilowii* Maxim., entre otras (Alarcón et al., 2000a).

En lo que respecta a nuestro país, la población emplea comúnmente a *Psacalium decompositum* para el control de la diabetes mellitus tipo 2, haciendo una extracción acuosa de las raíces, la cual es bebida por el paciente a razón de un vaso o tasa de 200-250 ml antes de los alimentos, tres veces al día.

Los resultados de la investigación farmacológica de la extracción acuosa en ratas y ratones sanos, y en ratones con diabetes experimental inducida con STZ, permiten convalidar el efecto hipoglucémico que la población le atribuye a esta planta en forma empírica y concuerdan con los resultados publicados por Alarcón et al. (1997, 1998, 2000a, 2000b) en otras condiciones experimentales.

Estudios previos realizados con la preparación tradicional de *P. decompositum* mostraron que reduce la glucemia en animales de experimentación de manera dosis dependiente y se demostró que las fracciones polares contienen polisacáridos que no fueron identificados (Alarcón et al., 2000a, Merino, 2005).

Para continuar nuestras investigaciones de confirmar la actividad hipoglucemiante de los extractos acuosos de las raíces del matarique y establecer la estructura química de el o los polisacáridos presentes en estos extractos, se purificó una de las fracciones reportada en la tesis de licenciatura de Merino en el 2005, con la colaboración de la Dra. Adriana López Fernández (Jiménez-Estrada M., Cartel, Congreso Latinoamericano de Química, La Habana, 2006), por cromatografía en columna usando como adsorbente sílica gel y una fase móvil de AcOEt/MeOH 90:10 (v/v), de las fracciones 57-92, la fracción 63 solidificó (90 mg) como un sólido blanco.

De esta última fracción se obtuvieron sus espectros de IR, EM y RMN y de acuerdo al siguiente análisis se pudo establecer la fórmula estructural de este compuesto activo que denominaremos Fructana-1 (Espectros 10, 11, 12).

El espectro de IR de la Fructana-1, presenta bandas intensas de OH y C-H que indican la presencia de grupos hidroxilo. Se estableció el PM de nuestro compuesto por EM mediante la técnica de FAB encontrando $M^+ = m/z$ 1337 (1314 + 23, $M^+ + NA$) y por MALDI-TOF $M^+ = m/z$ 1335.93 (1314-1 + 23 de $M^+ -1 + NA$), correspondiente a una fórmula molecular de $C_4H_8O_{41}$ (PM = 1314).

El espectro de 1H RMN de la Fructana-1 (Espectro 10) muestra en la región de los anoméricos una señal doble a 5.44 ppm ($J=35$ Hz) del protón anomérico de la unidad de glucosa en la forma α -glucosa. Las señales dobles intensas a 4.26 (1H, d, $J=8.5$ Hz) y a 4.10 (1H, t, $J=8.5$, $J=8.0$) se deben a los protones H-3 y H-4 de un sistema de fructosas, que con los grupos de señales centradas a 3.86 y 3.73 ppm.

De tal forma que se asignaron las señales restantes de la siguiente manera: los H-1' y H-1 de las fructosas generan las señales gruesas dobles a 3.82 (1H, dg, J= 10 Hz) y a 3.71 ppm (1H, dg, J= 10 Hz), el H-5 genera la señal múltiple centrada a 3.56 (1H) y los H-6' y H-6 a 3.84 (1H, *m*) y a 3.76 ppm (1H, *m*), respectivamente.

En el espectro de ^{13}C (Espectro 11) se observan 3 picos de mayor intensidad y otros 3 de menos intensidad y que se asignaron como está descrito en la Tabla 12. La señal del carbón anomérico de la α -glucosa presente en todas las fructanas (Ritsema y Smeekens, 2003) está a 93.23 ppm. La inulina y las oligofructosas pertenecen a una clase de carbohidratos conocidos como Fructanas y son ingredientes naturales del 15 % de las especies de plantas que florecen. Son polímeros lineales o ramificados de fructosa y contienen unida una unidad de glucosa terminal. La organización de todos los fructanos está basado sobre unidades de β -D-fructofuranosilo unidas entre sí en (2-1) y/o (2-6) con n unidades de fructosa (n= 5 a 10 las oligofructosas) y con un residuo glucosídico interno o externo, generalmente son solubles en agua. Algunos fructanos no digestibles (con β -D-(2-1) uniones glicosídicas del tipo de la inulina y oligómeros de la inulina presentan propiedades biológicas interesantes entre las cuáles podemos destacar efecto sobre la glucemia y la insulinemia, aunque éstos aún no han sido plenamente comprendidos (Kaur y Gupta, 2002) y los datos disponibles algunas veces son contradictorios, indicando que éstos efectos pueden ser dependientes de estados fisiológicos o condiciones de la enfermedad (diabetes), o de otras propiedades que aún no han sido bien estudiadas (Cérantola et al, 2004).

La configuración del anomérico de la Fructana -1 del D-glucopiranosilo se confirmó por las señales a 5.55/93.23 ppm. Los carbonos de la parte fructosilo se asignaron por los experimentos DEPT (Espectro 12)

Las señales fueron asignadas de siguiente forma: la señal simple a 104.05 de los carbonos (C2); a 81.92 8 de los CH-5; a 77.90 de los CH-3; a 75.20 de los CH-4: 62.87 de los CH₂-6 y a 61.80 ppm de los CH₂-1, indicando que este compuesto es un polisacárido del tipo de las fructanas y de estructura lineal.

En el espectro de HMBC de la Fructana -1 (Espectro 14), las conectividades inter e intra residuales permitieron distinguir la relación entre H-1/C-1 y H-6/C-6 de las señales de los hidroximetilos de las fructosas. Además se observa una fuerte correlación de C-2/H-1, por lo que se estableció que las uniones de la parte del fructosilo están de acuerdo con que nuestro compuesto es una oligofructana de tipo inulina (López et al., 2003).

Teniendo en consideración el PM de la Fructana-1, nuestro compuesto es un oligosacárido formado por 7 unidades de fructosa y una glucosa, del tipo inulina, en forma lineal y cuya fórmula se representa en la Figura 13.

En la Tabla 12 se describen las asignaciones hechas de los hidrógenos y los carbonos de la Fructana-1 y comparados con los del fructooligosacárido del tipo de la inulina aislado e identificado por Cérantola en el 2004 de *Matricaria marítima*, son muy similares, lo que permitió confirmar la estructura propuesta de la Fructana-1, además el PM obtenido por MALDI-TOF (Espectro 15) concuerda con las 7 unidades de fructosa y una glucosa presentes en este fructooligómero hipoglucemiante.

También con base en los datos obtenidos de los experimentos de 2D de RMN de NOESY, ROESY, HETCOR, COSY (Espectro 13), DEPT (Espectro 12), a 500 MHz tanto en MeOD como en piridina-6d, de la Fructana-1, permitieron afirmar que tiene la estructura de la Figura 13 y se estableció que es un oligofructana lineal de tipo inulina, cuya fórmula general de su organización estructural es:

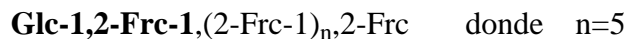


Tabla 12. Datos espectroscópicos de la Fructana -1 y *M. maritima*
(Modificado con base en Cérantola et al, 2004)

| Posición | Fructana-1 | | 500 MHz, D ₂ O | |
|----------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------|
| | ¹ H | ¹³ C | Oligómero <i>M. maritima</i> | |
| | | | ¹³ C | ¹ H |
| 1 | 3.92,d, 1H, J=8.5 ; 3.71,d,1H, J=8.5 | 61.80, CH ₂ | 62.0 | 3.72-3.96 |
| 2 | | 104.05, C | 104.3 | |
| 3 | 4.26 ,d, 1H, J= 8.5 | 77.90, CH | 78.1 | 4.27 |
| 4 | 4.10 ,t, 1H, | 75.20, CH | 75.4 | 4.11 |
| 5 | 3.86, s, 1H | 81.92, CH | 82.2 | 3.88 |
| 6 | 3.83, s, 1H; 3.76, m, 1H | 62.87,CH ₂ | 63.2 | 3.79-3.86 |
| 1' | 5.44,d, J=2.1Hz, J=3.5Hz | 93.5, CH | 93.6 | ~5.44 d, J= 3.8 |
| 2' | 3.55,d,d, J=8.5 | 72 | 72.4 | 3.55 |
| 3' | ~3.79,m | 73 | 73.8 | ~3.79 |
| 4' | 3.48,t | 70 | 70.5 | 3.48 |
| 5' | 3.86,t | 73 | 73.9 | 3.86 |
| 6' | ~3.86,m | 61 | 61.3 | ~3.86 |
| EM | C ₄₂ H ₈₂ O ₄₁ PM 1314 + 23 | 1337 (FAB)(M ⁺ +Na) | | |
| | C ₄₂ H ₈₂ O ₄₁ PM 1314 + 23 | 1335.93(MALDI-TOF) | M ⁺ -1+Na | |

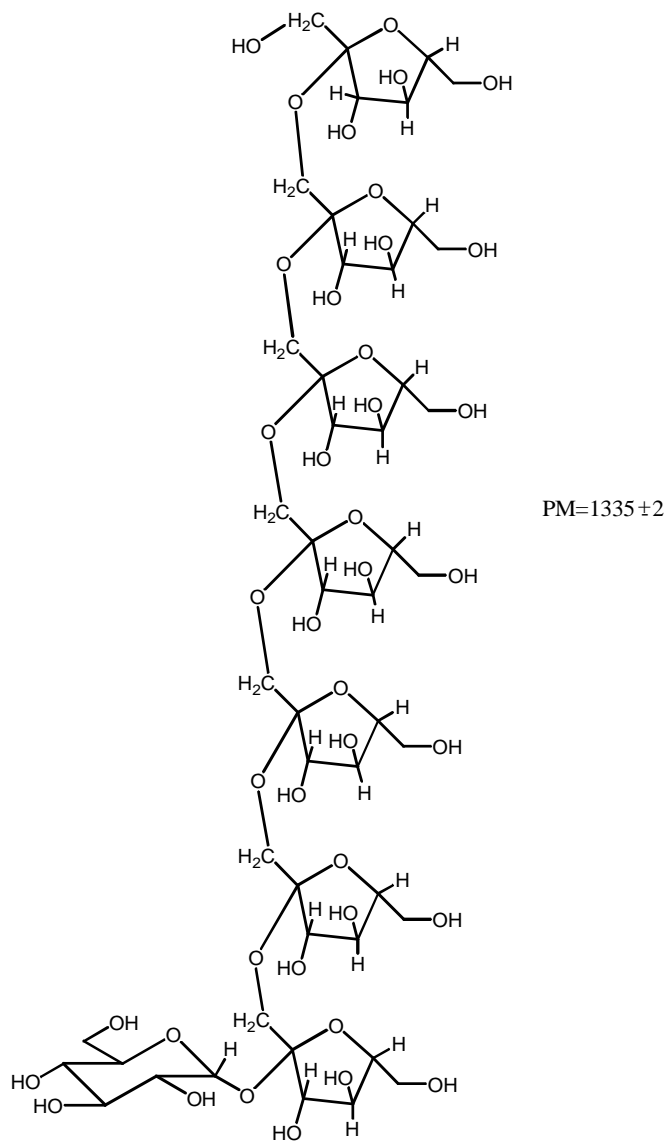


Figura 13. Estructura de la Fructana -1

Todos los extractos acuosos obtenidos contienen polisacáridos y éstos muestran fructosa en diferentes proporciones, la cual se detectó por CCF, comparándola con una muestra original

En el caso de las fracciones A1 y A2 purificadas por extracción con acetonitrilo/agua, sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C (Espectros 7,8 y 9), tienen el mismo patrón sus señales que los obtenidos de la Fructana-1, como se observa en los Espectros 10, 11 y 12.

Todo lo anterior llevó a establecer un método de obtención y purificación de los extractos polares de las raíces de *P. decompositum* en donde se mantiene el efecto hipoglucémico, se identificó químicamente uno de los principios polares activos presentes en ellos, la Fructana-1 y además se logró aumentar la cantidad en que se obtienen.

En lo que respecta a nuestros ensayos biológicos, en este estudio se decidió emplear una dosis de 150 mg/kg, claramente mayor a la dosis diaria administrada a pacientes diabéticos 75 mg/kg, porque el objetivo fue detectar la actividad hipoglucemiante causada por las fracciones ricas en polisacáridos en ratones sanos y con diabetes inducida.

No obstante, es de llamar la atención la dosis empleada en ratas sanas, revisando la literatura del efecto hipoglucémico de la raíz de *P. decompositum* no se encontraron registro en estos animales, por lo que se decidió probar el EAIM en esta especie, destacando que la dosis (300 mg/kg) empleada fue letal en el 50% de los animales.

Al macerar el extracto acuoso en MeOH, este disolvió los compuestos de baja y mediana polaridad, dejando en la parte insoluble los compuestos más polares, los cuales, al ser separados por la acción del disolvente, potenciaron su efecto hipoglucémico.

Con los resultados obtenidos en ratas sanas, se procedió a evaluar la efectividad del EAIM en ratones sanos, ya que al ser una especie de menor peso y tamaño, representa un ahorro en la cantidad de extracto administrada, además de que en estos animales es en donde se han reportado la mayor parte de los trabajos experimentales publicados.

En estos animales, se intentó establecer una relación dosis-respuesta; sin embargo, en esta especie la dosis de 300 mg/kg no fue letal, ni siquiera mostró un efecto significativo en las primeras tomas de muestra sanguínea; las que mostraron un claro efecto en los primeros tiempos fueron las dosis de 75 mg/kg y 37.5 mg/kg, aún la dosis de 150 mg/kg mostró mayor potencia que la dosis de 300 mg/kg antes de los 480 min.

Este comportamiento atípico del efecto hipoglucémico, podría explicarse con bases de adaptación al ambiente; en este caso, los ratones del estudio sólo fueron manipulados el día del experimento, sin un entrenamiento o acondicionamiento previo, lo cual confirma que una situación anómala en las condiciones habituales de los animales, los hace producir mayor cantidad de glucosa y esto podría bloquear el efecto hipoglucémico del extracto.

Al fraccionar el EAIM en una columna con Sephadex LH20 y una combinación de eluyentes H₂O-MeOH (70-30%) como fase móvil, se separaron con base en su peso molecular los agentes responsables del efecto sobre la glucemia, lo cual se evidenció con un efecto contundente a una menor dosis (150 mg/kg).

Para realizar los demás ensayos, primero se decidió acondicionar a los animales con 8 días de anticipación, el adiestramiento consistió en obtener muestras de sangre por punción de la venal caudal en la cola cada 4 h y dejándolos en ayuno 10 h cada tercer día, con la finalidad de habituar a los ratones al contacto con seres humanos y así evitar al máximo condiciones de estrés que pudieran afectar los valores de la glucemia.

En el ensayo en ratones con diabetes experimental se logró demostrar efecto sobre la hiperglucemia a los 360 min, dejando en claro que en estas fracciones polares se encuentran los compuestos responsables de la actividad hipoglucemiante.

Es importante señalar que la fracción 26 a los 360 min redujo la glucemia a niveles muy parecidos a los de la insulina, por esta razón se decidió probar solamente la fracción 26 y hacer una toma de muestra a las 24 h para verificar si se mantiene el efecto hipoglucémico pasando las 6 h habituales de la última toma de muestra.

Cabe destacar que el 50% de los animales a los cuales se les administró esta fracción a una dosis de 150 mg/kg perecieron durante las 18 h posteriores, probablemente debido a una severa hipoglucemia provocada por esta fracción.

Con respecto al extracto acuoso-alcohólico (ETA), este no presentó la actividad esperada, aparentemente porque la proporción de estos disolventes no fue la adecuada para extraer en cantidades suficientes los principios activos hipoglucemiantes. Así mismo, este extracto no está reportado en ninguna literatura, por lo que se procedió a validar el efecto de la tintura de la raíz del matarique.

Por último, es interesante destacar que en el último lustro, más polisacáridos aislados de plantas y hongos han mostrado efecto hipoglucémico, como son los encontrados en *Dendrobium chrysotoxum* Lindl, *Liriope spicata* (Thunb) var. *prolifera*, *Pleurotus citrinopileatus* Sing, sin embargo ninguno de ellos es un fructano y éste es uno de los primeros reportes acerca de compuestos de esta naturaleza con actividad hipoglucemiante (Xie et al., 2004; Hu et al., 2006; Zhao et al., 2007; Chen et al., 2009)

Conclusiones

Se corroboró que en el extracto acuoso de la raíz de *P. decompositum* se encuentran los agentes responsables del efecto hipoglucémico.

El extracto acuoso insoluble en MeOH es letal para ratas sanas a una dosis de 300 mg/kg

Las fracciones polares obtenidas del EAIM muestran un efecto hipoglucémico en ratones con diabetes experimental.

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C confirman que los componentes mayoritarios del extracto acuoso y sus fracciones polares son polisacáridos.

Los espectros de de RMN ^1H y ^{13}C del residuo A1 y de la fracción 63 obtenida del mismo permiten afirmar que el compuesto responsable de la actividad hipoglucemiante es una oligofrufructana lineal de tipo inulina.

Estos avances permiten establecer un sustento científico para *P. decompositum* cuando se emplea como remedio tradicional antidiabético.

Referencias

A

ADA (American Diabetes Association) (2005): Diagnosis and classification of Diabetes mellitus Diabetes Care; 28, (Suppl 1): 37-42.

ADA (American Diabetes Association) (2006): Diagnosis and classification of Diabetes mellitus (Position Statement). Diabetes Care; 29(Suppl): 43-48.

Aguilar C.A., Camacho J.R., Chino S., Jáquez P., López M.E. (1994): Plantas Medicinales del Herbario IMSS. Información etnobotánica. México, D.F. pp. 18-163

Aguilar C.A., Xolalpa M. S. (2002): La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. Ciencia; 53 (3): 24-35.

Aguilar S.C.A. (2002): Avances en el tratamiento de la diabetes tipo 2. Ciencia; 53 (3): 63-71.

Alarcón A., F. J., (1997): "Investigación experimental de la acción hipoglucemiante de plantas usadas en el control de la diabetes mellitus". Tesis Doctoral, UAM; México. 189 p.

Alarcón-Aguilar, F. J., Román-Ramos R., Jiménez-Estrada M., Reyes-Chilpa R., González-Paredes B., Flores-Sáenz J.L. (1997): Effects of three Mexican medicinal plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. J Ethnopharmacol; 55(3): 171-177.

Alarcón-Aguilar, F. J., Román-Ramos R., Pérez-Gutierrez S., Aguilar-Contreras A., Contreras-Weber C. C. & Flores-Sáenz J. L. (1998): Study of the antihyperglycemic effect of plants used as antidiabetic. J Ethnopharmacol; 61(2): 101-110.

Alarcón-Aguilar F. J., Jiménez-Estrada M., Reyes-Chilpa R., González-Paredes B., Contreras-Weber C. C., Román-Ramos R. (2000a): Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids and one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. J Ethnopharmacol; 69(3): 207-215.

Alarcón-Aguilar, F. J., Jiménez-Estrada M., Reyes-Chilpa R. & Román-Ramos R. (2000b): Hypoglycemic effect of extracts and fractions from *Psacalium decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *J Ethnopharmacol*; 72: 21-27.

Alberti K.G.M.M., Zimmet P.Z., for the WHO Consultation. (1998): Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*; 15: 539-553.

Ali L., Khan A.K., Mamun M.I., Mosihuzzaman M., Nahar N., Nur-e-Alam M., Rokeya B. (1993): Studies on hypoglycemic effects of fruit pulp, seed, and whole plant of *Momordica charantia* on normal and diabetic model rats. *Planta Med*; 59: 408-412.

Anaya A.L., Hernández-Bautista B.E., Torres-Barragán A., León-Cantero J., Jiménez-Estrada, M. (1996): Phytotoxicity of cacalol and some derivatives obtained from the roots of *Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Rob. & Brettell (Asteraceae), matarique or maturin. *J Chem Ecol*; 22: 393-406.

Andrade-Cetto A., Heinrich M. (2005): Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol*; 99: 325-348.

Andrade-Cetto A., Wiedenfeld H. (2001): Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats; *J Ethnopharmacol*; 78(2-3): 145-149.

B

Bailey C. J., Flatt, P. R. (1990): Models for testing new hypoglycemic drugs. En: Bailey C. J., y Flatt, P. R. (Eds). *New antidiabetic drugs*. Smith-Gordon. London. pp. 65-82.

Bajaj M., DeFronzo R.A. (2003): Metabolic and molecular basis of insulin resistance. *J Nucl Cardiol*; 10(3):311-23.

Baynes, J. W.; Thorpe, S. R. (1999): Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*; 48: 1-9.

Bye, R., Linares E., Estrada E. (1995): Biological diversity of medicinal plants in México. *Phytochemistry of Medicinal Plants*, Vol. 29, Chapter 4. Arnason et al. (Eds). Plenum Press, New York. pp. 61-85.

C

Cassani H. J., (1997): “Estudio de la producción de polisacáridos de *Leuconostoc esenteroides* NRRL B-523”. Tesis de Maestría, UNAM; México, DF 60 p.

Cérantola S., Kervarec N., Pichon R., Magné C., Bessieres M. A., Deslandes E. (2004): NMR characterisation of inulin-type fructooligosaccharides as the major water-soluble carbohydrates from *Matricaria maritima* (L.). *Carbohydr Res.* 339(14): 2445-2449

Chen X., Bai X., Liu Y., Tian L., Zhou J., Zhou Q., Fang J., Chen J. (2009): Anti-diabetic effects of water extract and crude polysaccharides from tuberous root of *Liriope spicata* var. *prolifera* in mice. *J Ethnopharmacol.* 122(2): 205-209.

Cheng A.Y., Fantus I.G. (2005): Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ*; 172(2): 213-26

Contreras C., Román R., Pérez C., Alarcón F. Zavala M., Pérez S. (2005): Hypoglycemic activity of a new carbohydrate isolated from the roots of *Psacalium peltatum*. *Chem Pharm Bull*; 53 (11): 1408-1410.

Correa, J., Romo, J., (1966): The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray. Structures of maturin, maturinin, maturon and maturinone. *Tetrahedron*; 22: 685-691

D

De-Luca V., Cutler A. (1987): Subcellular localization on enzyme involved in indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiol*; 85: 1099-1102.

F

Foster D.W. (1998): Diabetes mellitus. En: Harrison: Principios de Medicina Interna. McGraw-Hill-Interamericana. España, 14^o Edición. pp. 2341-2365.

Foulis A.K. (1989): In type I diabetes, does a non-cytopathic viral infection of insulin secreting β -cells initiate the disease leading to their autoimmune destruction? *Diabet Med*; 6: 666-74.

G

Guerrero-Analco, J. A. (2007): “Compuestos antihiperlipémicos y antinociceptivos de la especie *Hintonia standleyana* Bullock (Rubiaceae). Una contribución a la determinación de los parámetros de inocuidad, calidad y eficacia de la droga cruda”. Tesis Doctoral. UNAM, México. 157 p.

Gogia A., Agarwal P.K. (2006): Metabolic syndrome. *Indian J Med Sci*; 60(2):72-81.

H

Hammouda Y., Amer M. S. (1966): Antidiabetic effect of tecomine and tecostanine. *J. Pharm Sci*; 55: 1452-1454.

Hammouda Y., Rashid A.K, Amer M. S. (1964): Hipoglycemic properties of tecomine and tecostanine. *J Pharm Pharmacol*; 16: 833-834.

Herman H. W. (1999): Glycaemic control in diabetes. *BMJ*; 319 (7202): 104–106

Hernández-Ávila M., Olaíz, F.G. (2002): La diabetes y el mexicano: un reto para la salud pública. *Ciencia*; 53 (3): 8-17.

Hernández V.M. (2005): Aspectos básicos en el control de la diabetes gestacional. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*; 43 (5): 419-423

Hu S.H., Wang J.C., Lien J.L., Liaw E.T., Lee M.Y. (2006): Antihyperglycemic effect of polysaccharide from fermented broth of *Pleurotus citrinopileatus*. *Appl Microbiol Biotechnol*; 70(1): 107-113.

Herold K.C., Vezys V., Sun Q., Viktora D., Seung E., Reiner S., Brown D.R. (1996): Regulation of cytokine production during development of autoimmune diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin: *J Immunol*; 156 (9): 3521-3527.

I

INI (Instituto Nacional Indigenista). (1994). "Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana". Tomo I. México.

Inman W.D., Luo, J., Jolad, S.D., King S.R., Cooper R. (1999): Antihyperglycemic sesquiterpenes from *Psacalium decompositum*. *J Nat Prod*; 62 (8): 1088-1092.

J

Jiménez-Estrada, M., Lozano, C., Valdés, M.J., León, J.R., Alarcón, G., Sveshtarova, B., (1992): Actividad antimicrobiana del cacalol y sus derivados. *Rev. Latinoam. Quim*; 23/1 – 22/4, 72.

Jiménez-Estrada, M., Merino-Aguilar H., López-Hernández A., Alarcón-Aguilar, F. J. (2006): "Cacalosa nueva fructana con efectos hipoglucemiantes de Matarique (*Psacalium decompositum*)". Poster. XXVII Congreso Latinoamericano de Química y VI Congreso Internacional de Química e Ingeniería Química. La Habana, Cuba, 16-20 de octubre.

Juscafresca B. (1995): Guía de la flora medicinal. Tóxica, aromática y condimenticia. Madrid: Editorial AEDOS, Mundi-Prensa. pp. 11-12

K

Kaur, N., Gupta, A.K. (2002): Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J Biosci*; 27(7): 703-714.

L

Landeros O.E.A. (2000): El panorama epidemiológico de la diabetes mellitus. Rev Mex Enfer Cardiol; 8(1-4): 56-59

Linares E., Bye, R. (1987): A study of four medicinal plant complexes of northern México and adjacent United States. J Ethnopharmacol; 19(2):153-83.

López, G.M., Mancilla, M.N.A., Mendoza, D.G., (2003): Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. Agric Food Chem; 51(27): 7835-7840.

Lozoya X., Lozoya M. (1982): Flora medicinal de México plantas indígenas. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 309 p.

M

Marles R.J., Farnsworth N.R. (1994): Plants as sources of antidiabetic agents. En Wagner H, Farnsworth NR (eds.). Economic and Medicinal Plants Research 6, London Academic Press. 325 p.

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

Márquez C, Lara F, Esquivel R, Mata R. (1999): Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad biológica. México DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 137 p.

Martínez M. (1959): Las Plantas Medicinales de México. Botas, México. Editorial Botas. México, D.F. 656 p.

Merino, A. H. (2005): “Estudio de la actividad hipoglucemiante de los extractos acuosos de las raíces de *Psacalium decompositum* (Matarique) en ratones sanos y diabéticos”. Tesis de Licenciatura. UNAM; México. 60 p.

Moller, D. E. (2001): New drug targets for Type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature*; 414: 821-827.

P

Perez R.M., Cervantes H., Zavala M.A., Sanchez J., Perez S., Perez C. (2000): Isolation and hypoglycemic activity of 5, 7,3'-trihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytomedicine*; 7(1): 25-29.

Petersen K. F., Shulman G.I. (2006): Etiology of Insulin Resistance. *Am J Med*; 119 (5 Suppl 1): 10-16.

R

Ritsema, T., Smeekens, S., (2003): Fructans: beneficial for plants and humans. *Curr. Op. Plant Biol.* 6(3): 223-230.

Román-Ramos, R., Flores-Sáenz J. L., Partida-Hernández G., Lara-Lemus A., Alarcón-Aguilar F. (1991): Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Arch Invest Med*; 22(1): 87-93.

Román Ramos R., Alarcón Aguilar F., Lara Lemus L., Flores Saenz J.L. (1992a): Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetic. *Arch Med Res*; 23(1): 59-64.

Román-Ramos R., Flores-Sáenz J. L., Alarcón-Aguilar F. J. (1995): Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *J Ethnopharmacol*; 48(1): 25-32.

Romo J., Joseph-Nathan P. (1964): The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray. Structures of cacalol and cacalone. *Tetrahedron*; 20: 2331–2337.

Ross S.A., Gulve E.A., Wang M. (2004): Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. *Chem Rev*; 104(3): 1255-1282.

S

Schultes O. (1991): Historical perspective and future of ethnopharmacology. *J Ethnopharmacol*; 32: 7-24.

SINAIS (Sistema Nacional de Información en Salud) (2005): <http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad/>

Soumyanath A., (2006): *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants* Taylor and Francis Group Editors. 1a Edición Boca Raton, Florida. pp. 7-10.

T

Takasu N., Komiya I., Asawa T., Nagasawa Y., Yamada T. (1991): Streptozocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes*. 40 (9): 1141–1145

Tennekoon K.H., Jeevathayaparan S., Angunawala P., Karunanayake E.H., Jayasinghe K.S. (1994): Effect of *Momordica charantia* on key hepatic enzymes. *J Ethnopharmacol*; 44(2): 93-97

Tresguerres J.A.F. (2005): *Fisiología Humana* 3ª. ed. Interamericana, McGraw-Hill. Madrid. 939-1112.

V

Verspohl E. J. (2002): Recommended testing in diabetes research. *Planta Med*; 68: 581-590.

W

WHO (World Health Organization) (2000): *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*. WHO/EDM/TRM/2000.1.

WHO (World Health Organization) (2005): Página de red: www.who.int; Acceso en junio de 2009.

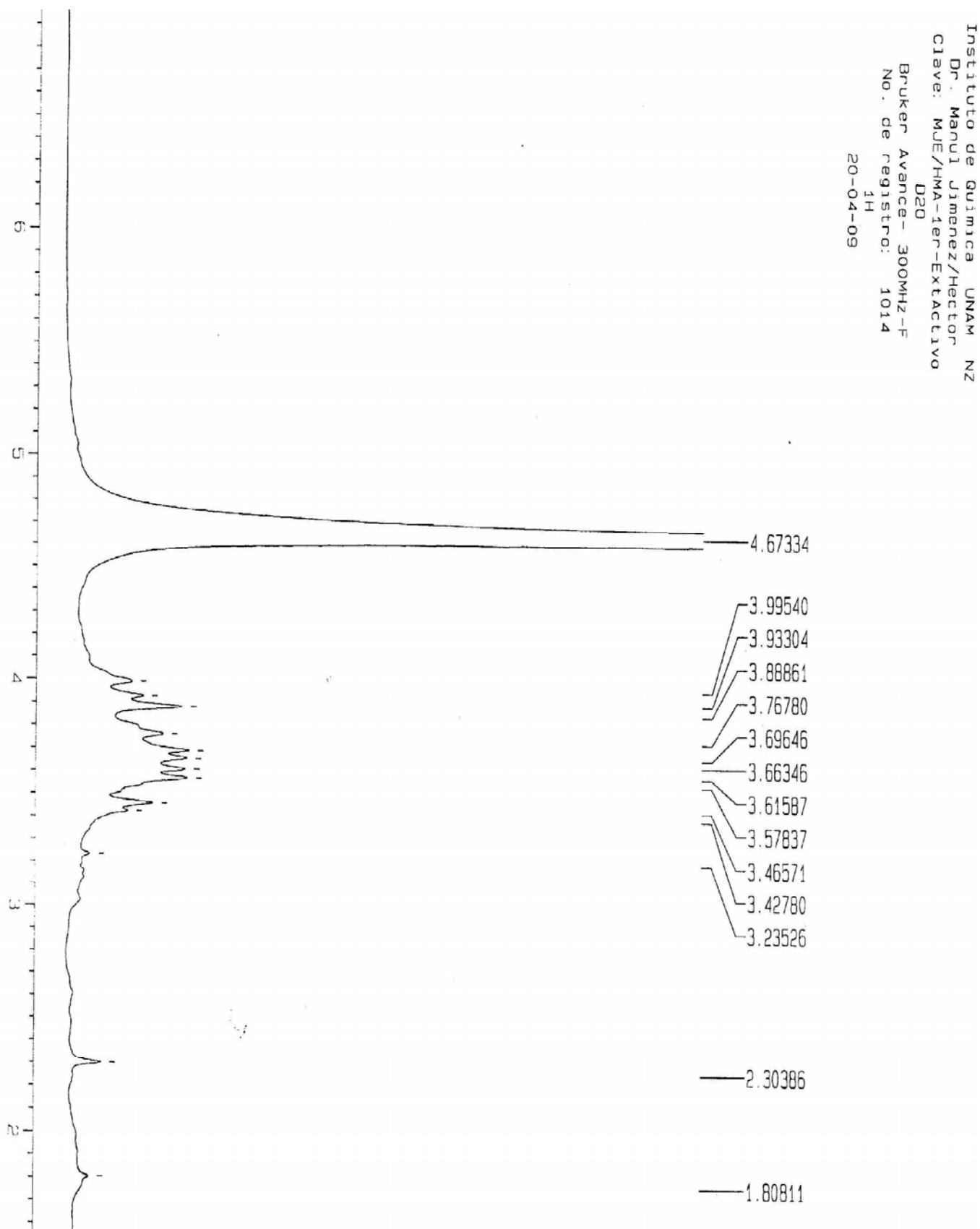
Wood S.L., Sauve R., Ross S., Brant R., Love E.J. (2000): Prediabetes and perinatal mortality. *Diabetes Care*; 23: 1752-1754.

Y

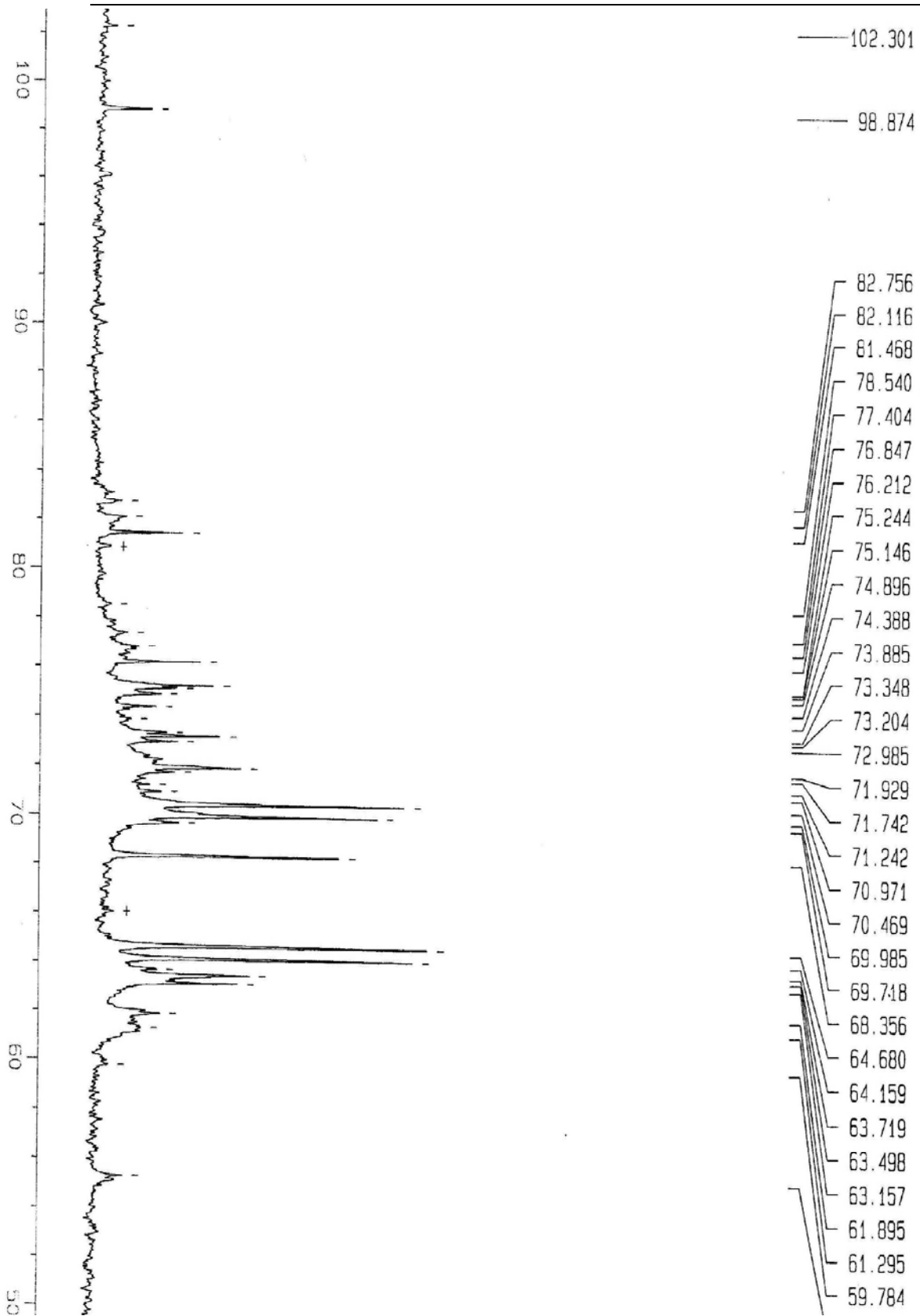
Xie J.T., Wu J.A., Mehendale S., Aung H.H., Yuan C.S. (2004): Anti-hyperglycemic effect of the polysaccharides fraction from American ginseng berry extract in ob/ob mice. *Phytomedicine*; 11: 182-187.

Z

Zhao Y., Son Y. O., Kim S. S., Jang Y. S. Lee J. C. (2007): Antioxidant and anti-hyperglycemic activity of polysaccharide isolated from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. *J Biochem Mol Biol*; 40 (5): 670-677



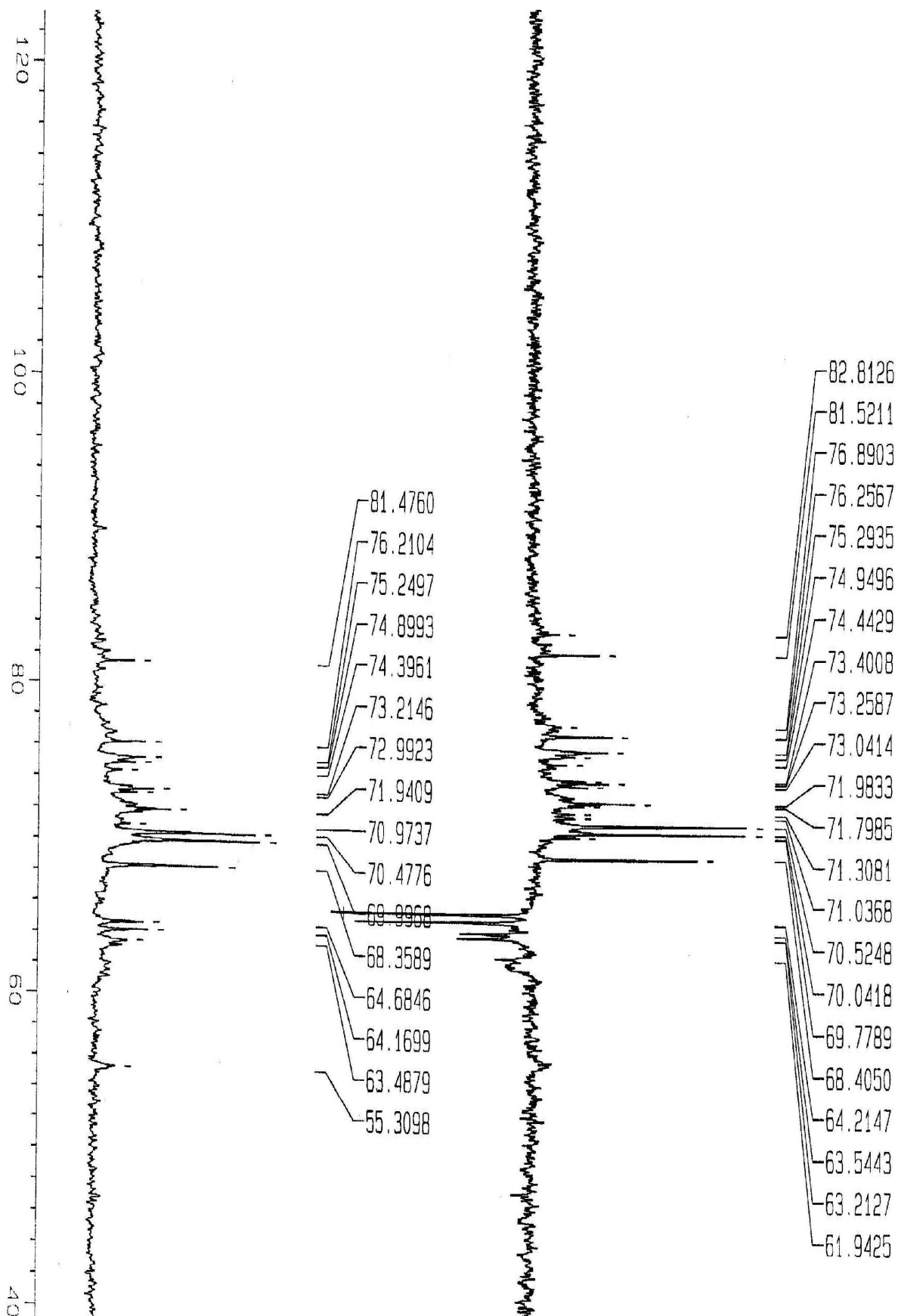
Espectro 1. Espectro de RMN ^1H del EAIM obtenido de las raíces de *P. decompositum*.



Espectro 2. Espectro de RMN ^{13}C del EAIM obtenido de las raíces de *P. decompositum*.

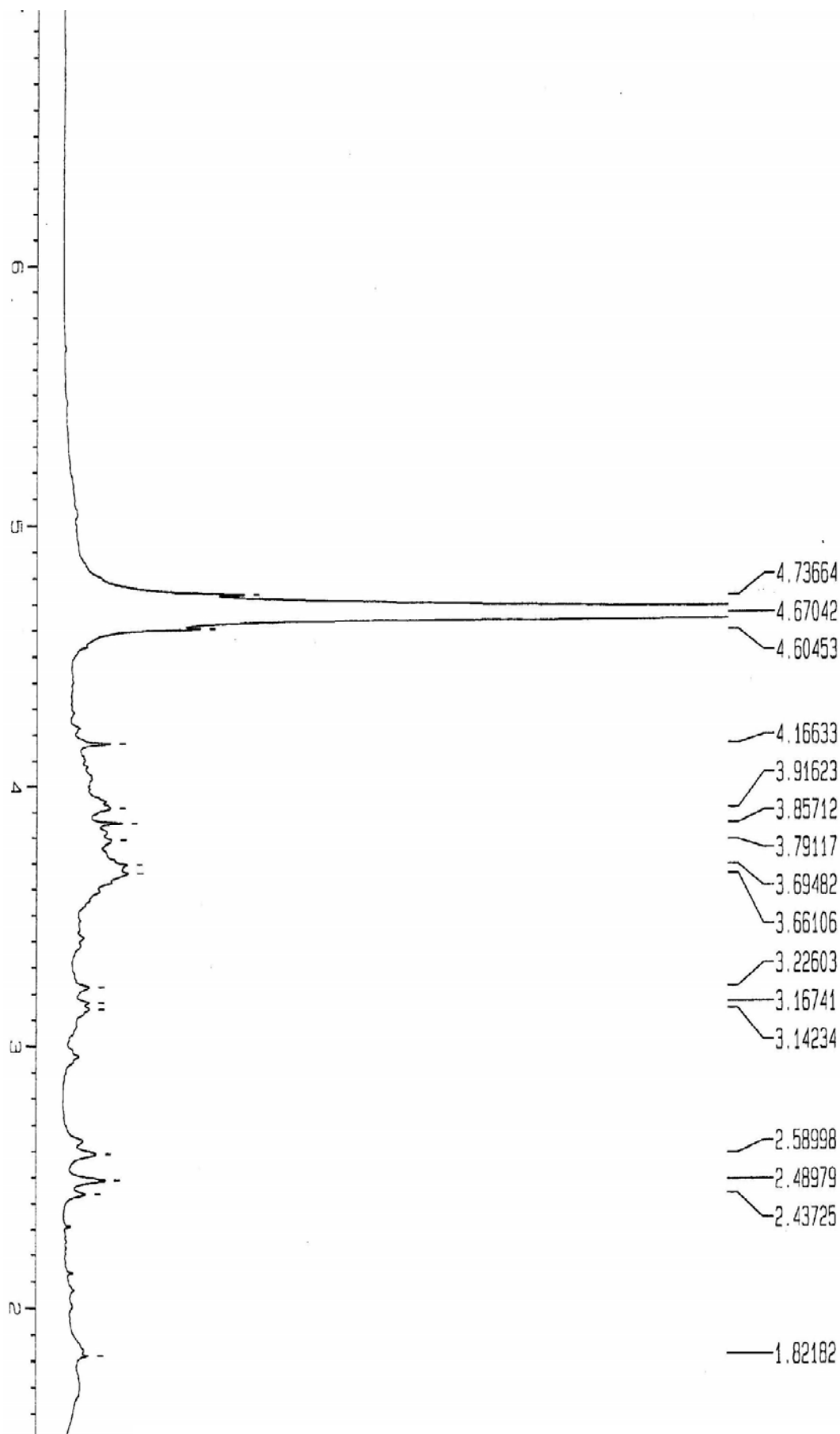
Instituto de Quimica UNAM NZ
 Dr. ManuJ Jimenez/Hector
 Clave: MJE/HMA-1er-Extractivo
 D2O

Bruker Avance- 300MHz-F
 No. de registro: 1014
 Dept no editado
 20-04-09



Espectro 3. Espectro DEPT de RMN ¹³C del EAIM obtenido de las raíces de *P. decompositum*.

Instituto de Quimica UNAM NZ
 Dr. Manuel Jimenez/Hector
 Clave: MJE/HM-pd-F-18-3activo
 D2O
 Bruker Avance- 300MHz-F
 No. de registro: 2665
 1H
 19-08-08



Espectro 4. Espectro de RMN ¹H de la fracción 18 (Sephadex) del EAIM activo

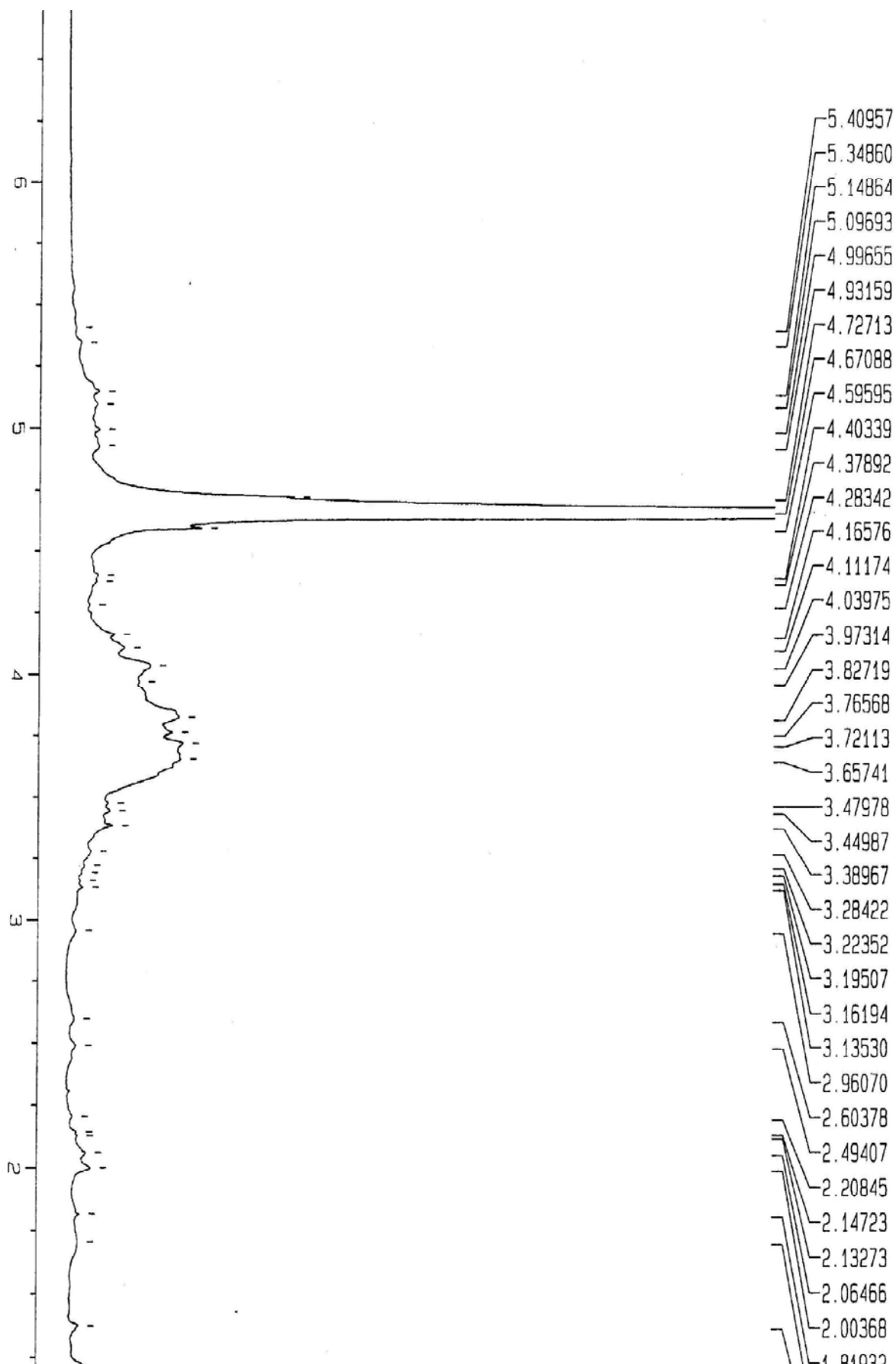
Instituto de Quimica UNAM NZ
 Dr. Manuel Jimenez/Hector
 Clave: MJE/HM-Pd-F-21-2activo

D2O

Bruker Avance- 300MHZ-F
 No. de registro: 2666

¹H

19-08-08



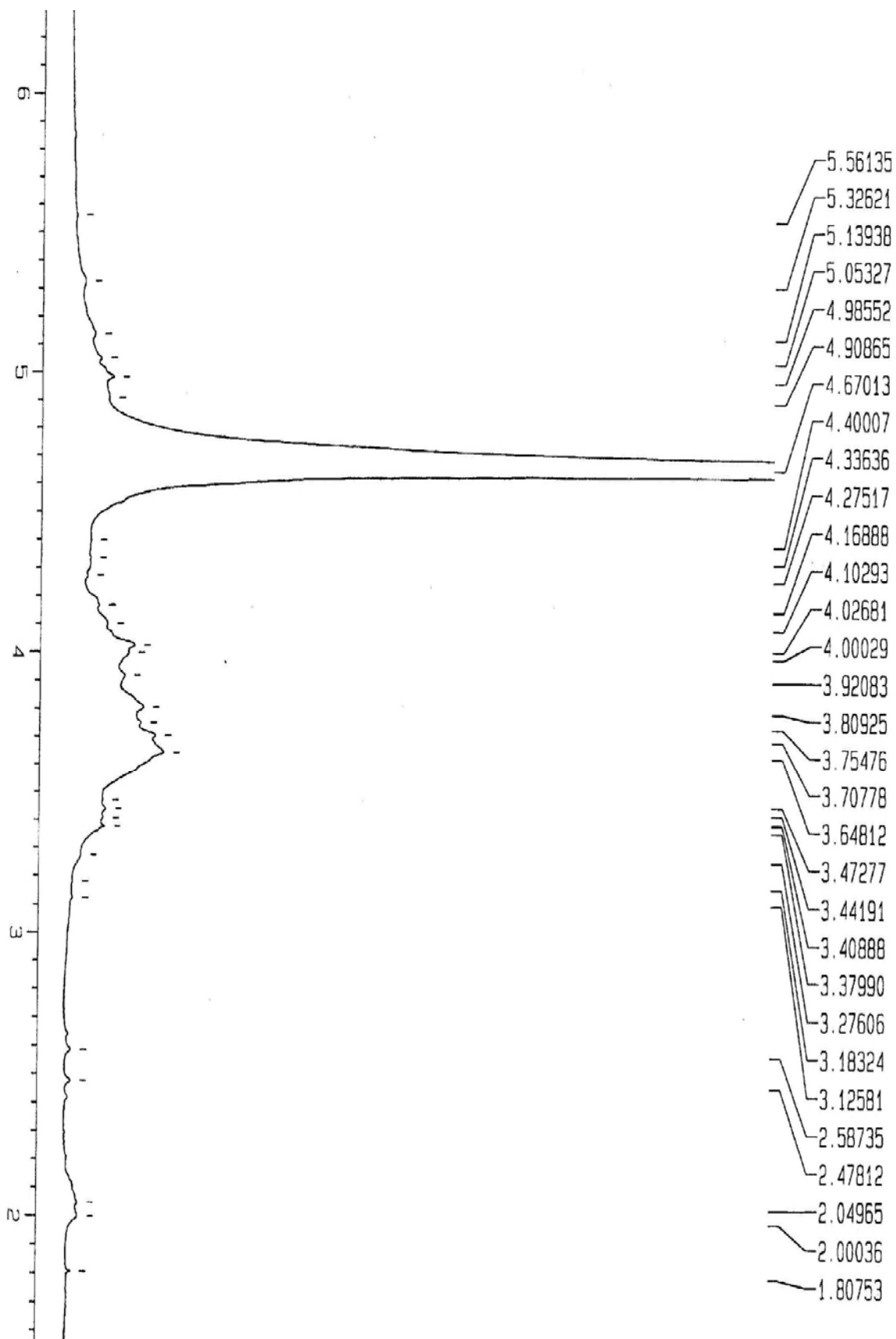
Espectro 5. Espectro de RMN ¹H de la fracción 21 (Sephadex) del EAIM activo

Instituto de Quimica UNAM NZ
Dr. Manuel Jimenez/Hector
Clave: MJE/HM-pd-F-26-activo

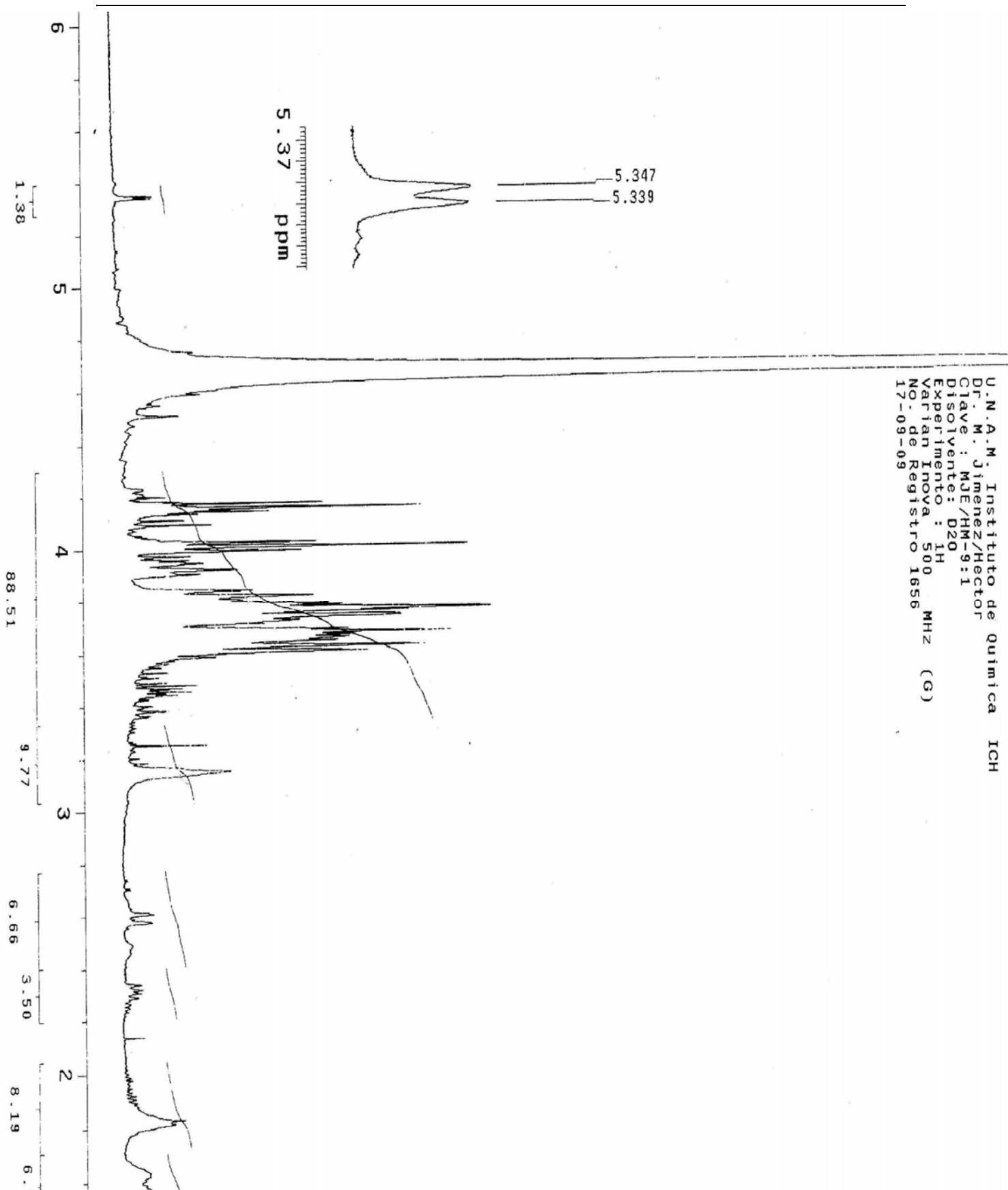
D2O

Bruker Avance- 300MHz-F
No. de registro: 2667

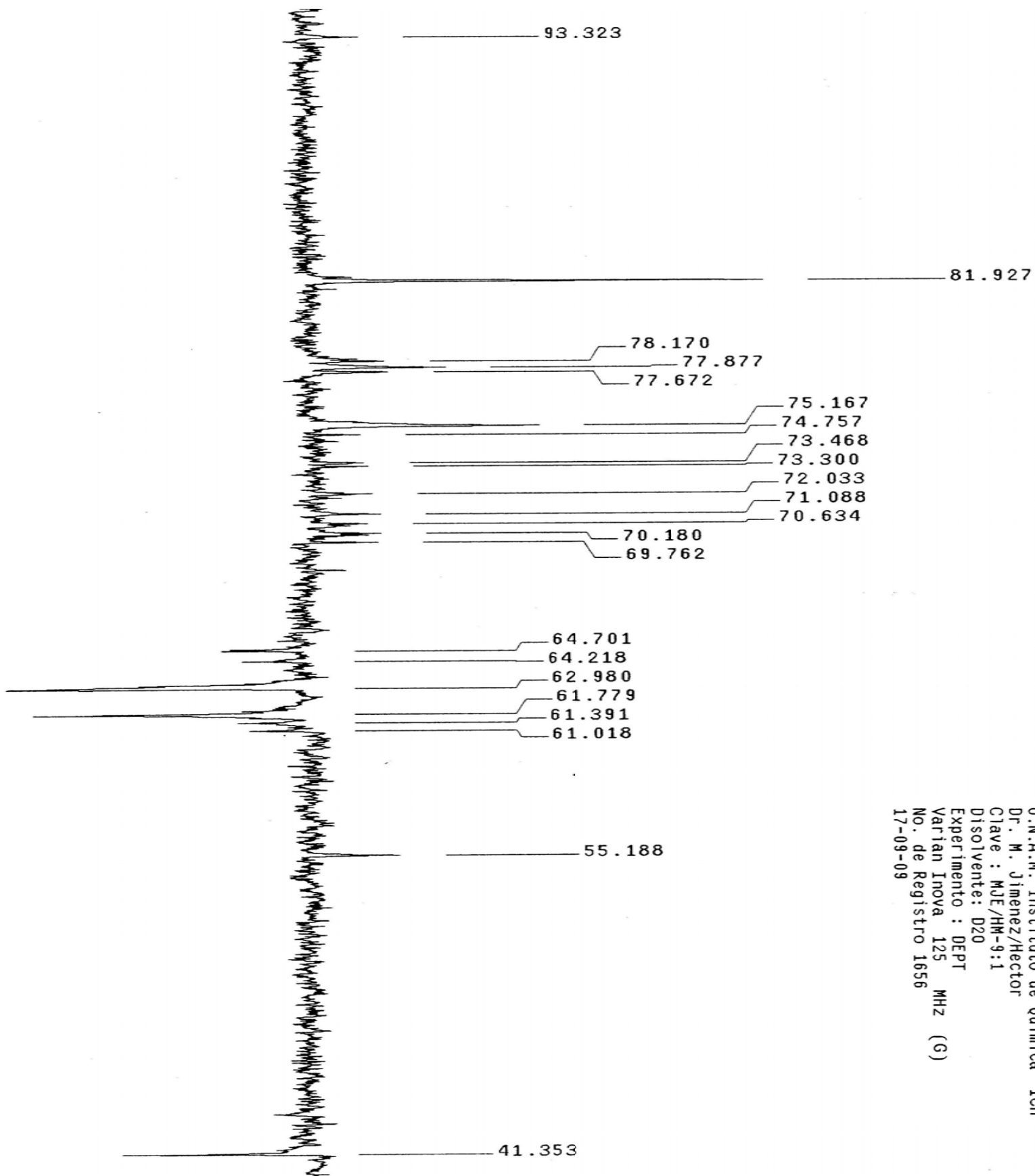
¹H
19-08-08



Espectro 6. Espectro de RMN ¹H de la fracción 26 (Sephadex) del extracto EAIM activo.

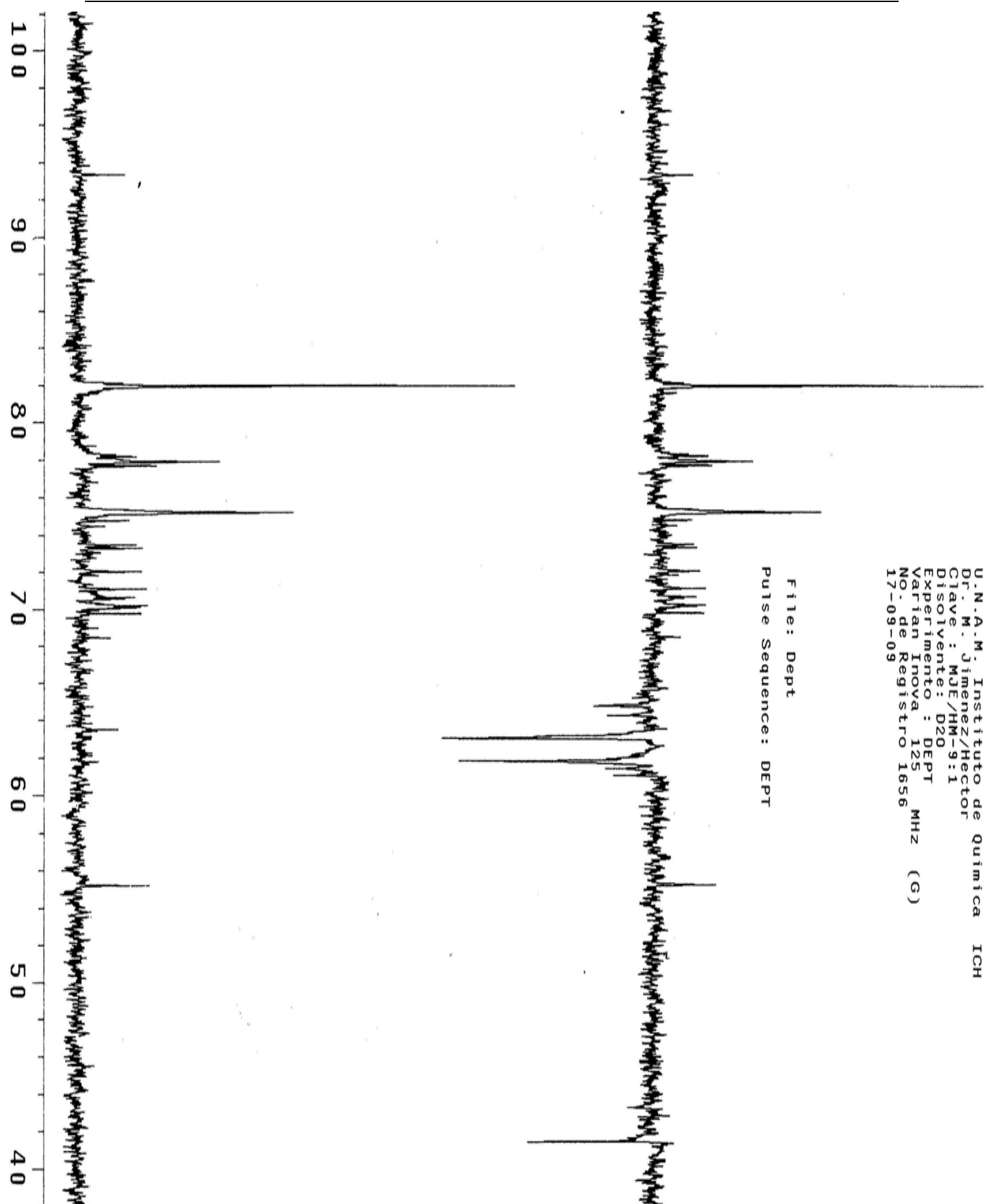


Espectro 7. Espectro de RMN ^1H del residuo activo obtenido de la extracción líquido-líquido acetonitrilo/ H_2O (9:1) del EAIM.

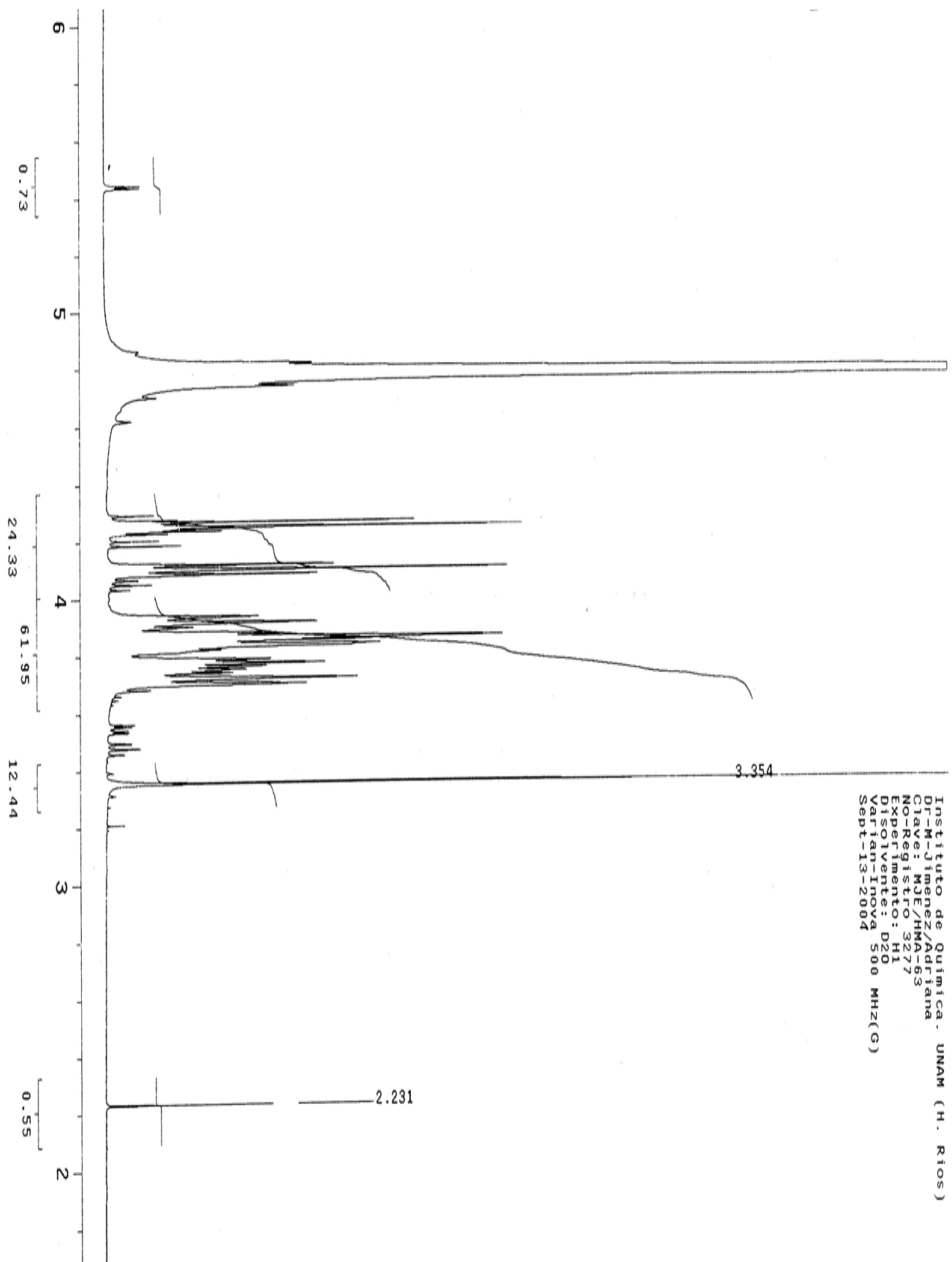


U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. M. Jimenez/Hector
 Clave : MJE/HM-9:1
 Disolvente: D2O
 Experimento : DEPT
 Varian Inova 125 MHz (G)
 No. de Registro 1656
 17-09-09

Espectro 8. Espectro DEPT de RMN ¹³C del residuo activo obtenido de la extracción líquido-líquido (9:1) acetonitrilo/H₂O del EAIM.

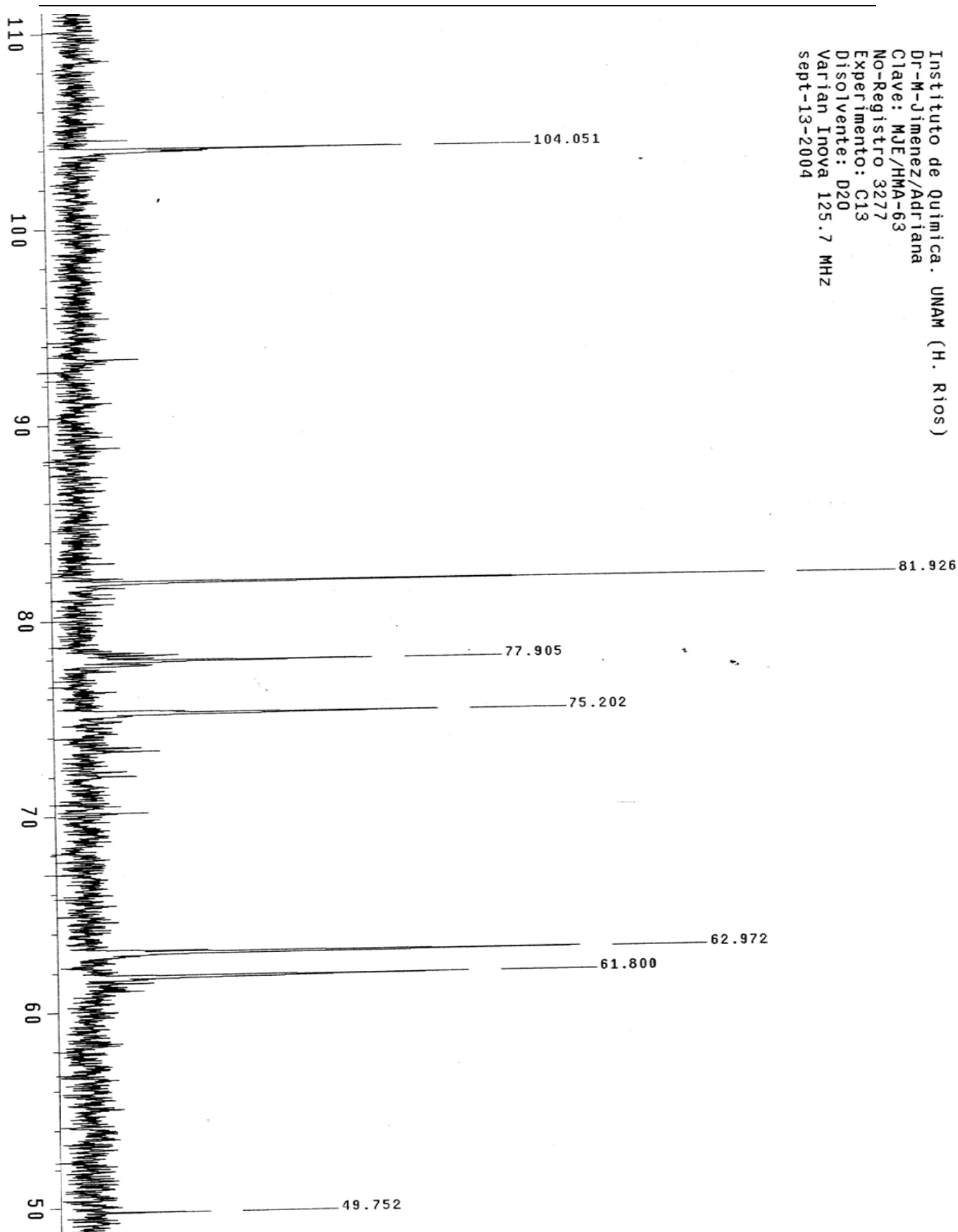


Espectro 9. Experimento DEPT de RMN ^{13}C del residuo activo obtenido de la extracción líquido-líquido, acetonitrilo/ H_2O (9:1) del EAIM



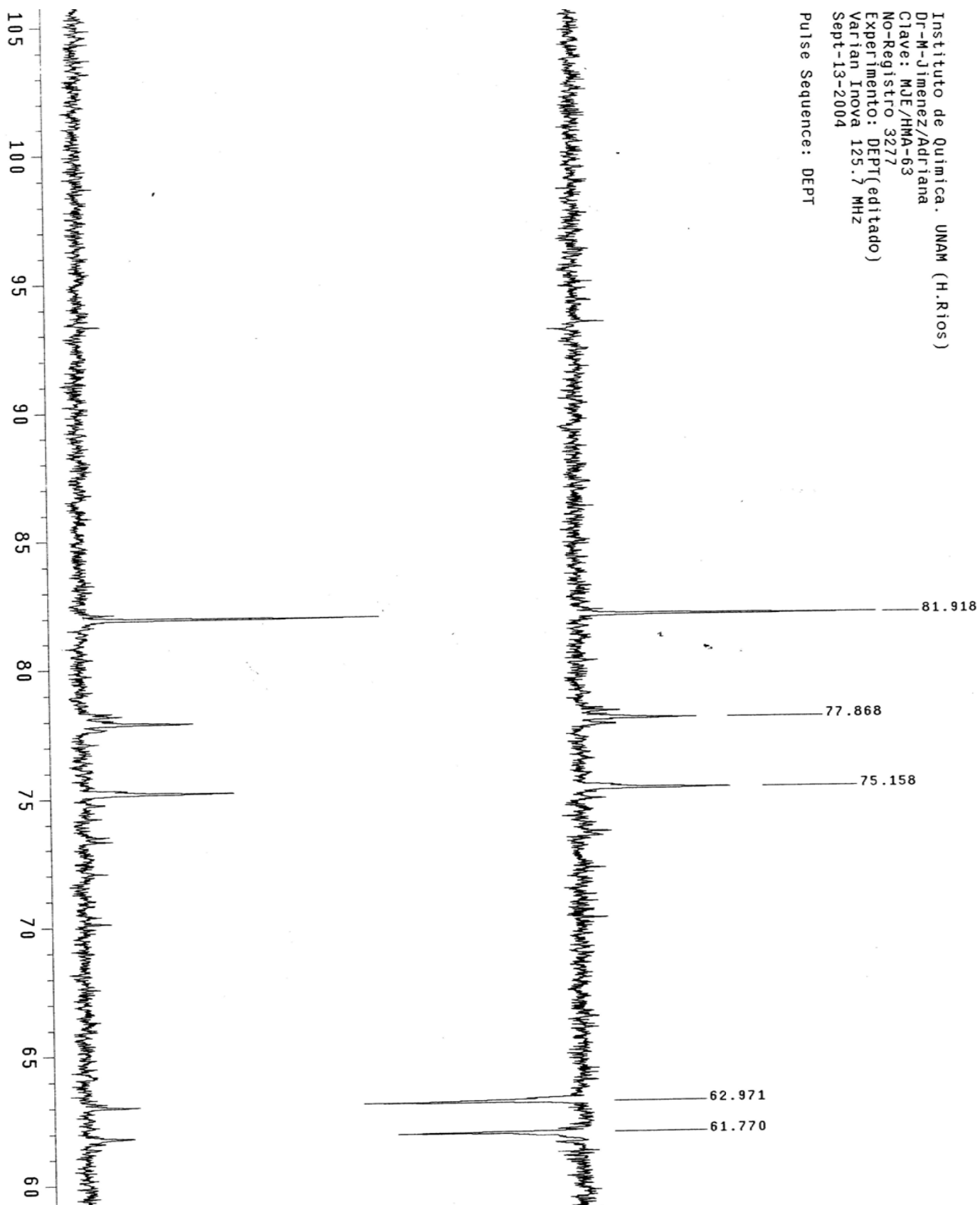
Espectro 10. Espectro de RMN ¹H de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido por CC en sílica gel

Instituto de Quimica. UNAM (H. Rios)
Dr-M-Jimenez/Adriana
Clave: MJE/HMA-63
No-Registro 3277
Experimento: C13
Disolvente: D2O
Varian Inova 125.7 MHz
sept-13-2004



Espectro 11. Espectro de RMN ¹³C fracción 63 purificada del residuo activo obtenido por CC en sílica gel

Instituto de Quimica. UNAM (H.Rios)
Dr-M-Jimenez/Adriana
Clave: MJE/HMA-63
No-Registro 3227
Experimento: DEPT(editado)
Varian Inova 125.7 MHz
Sept-13-2004
Pulse Sequence: DEPT



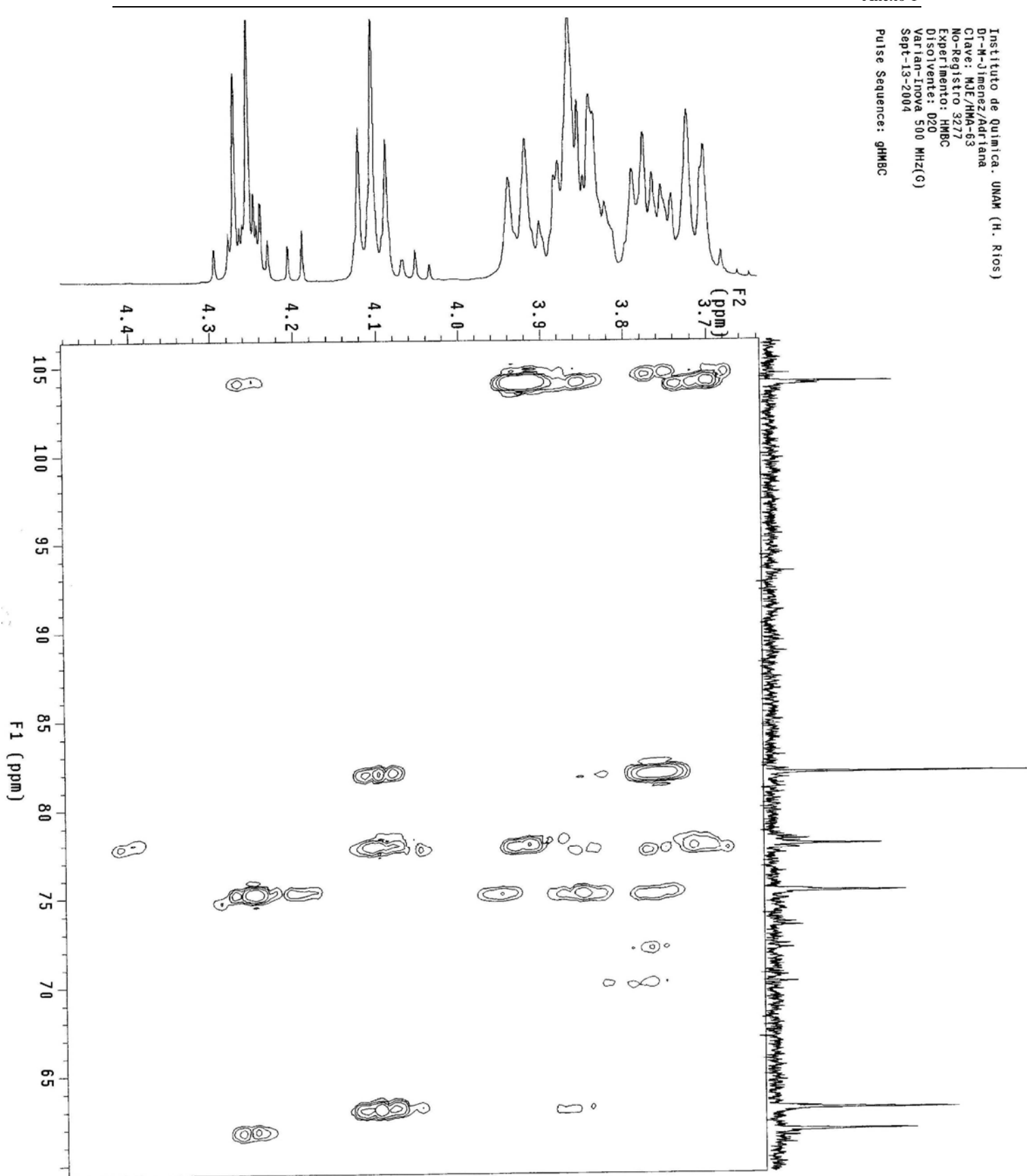
Espectro 12. Experimento DEPT de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido por CC en sílica gel

Instituto de Química. UNAM (H. Rios)
 Dr.-M.-Jimenez/Adriana
 Clave: MJE/HMA-63
 No-Registro: 3277
 Experimento: COSY
 Disolvente: D₂O 500 MHz(G)
 Sept-13-2004
 Pulse Sequence: gCOSY

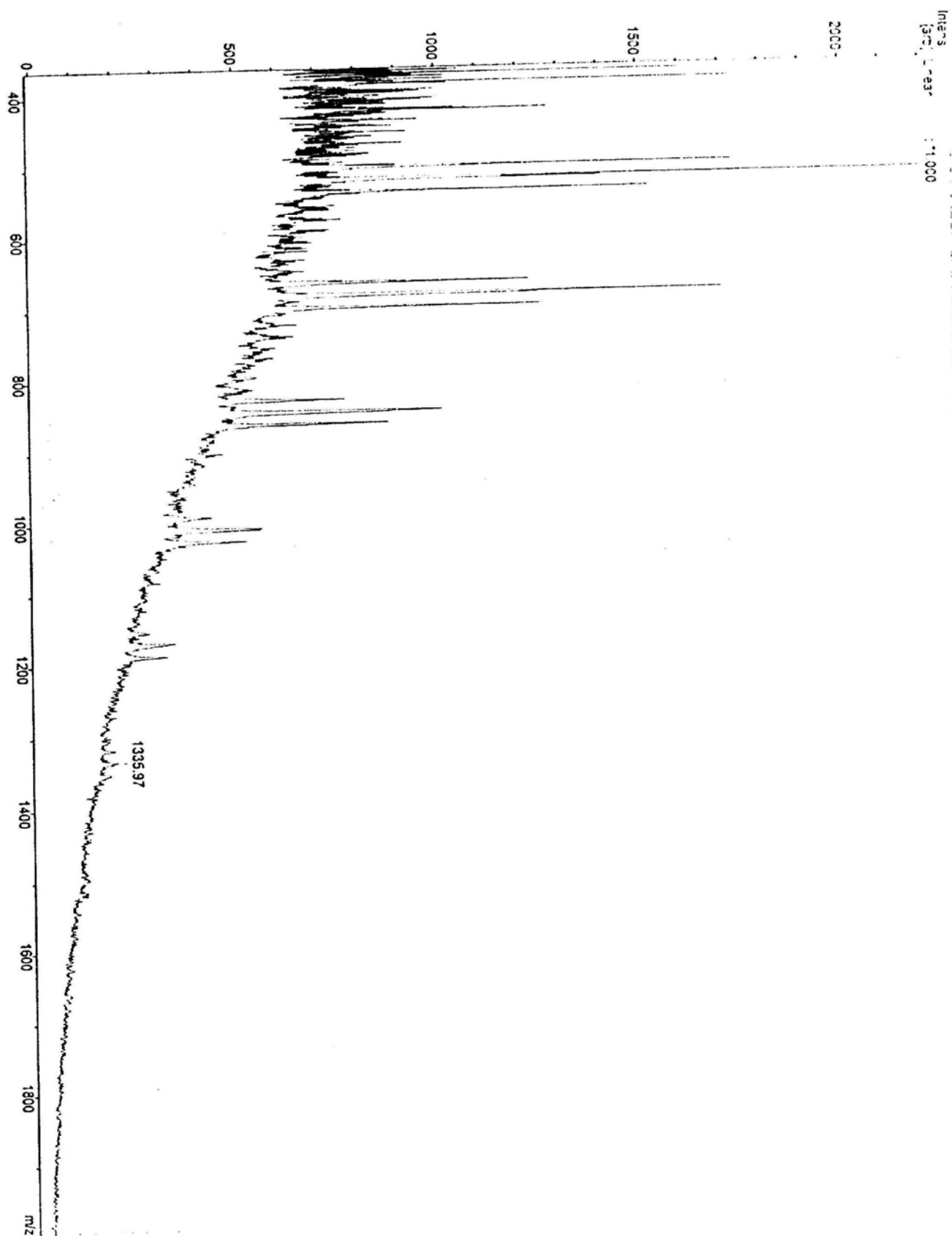


Espectro 13. Experimento Cosy de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido por CC en sílica gel

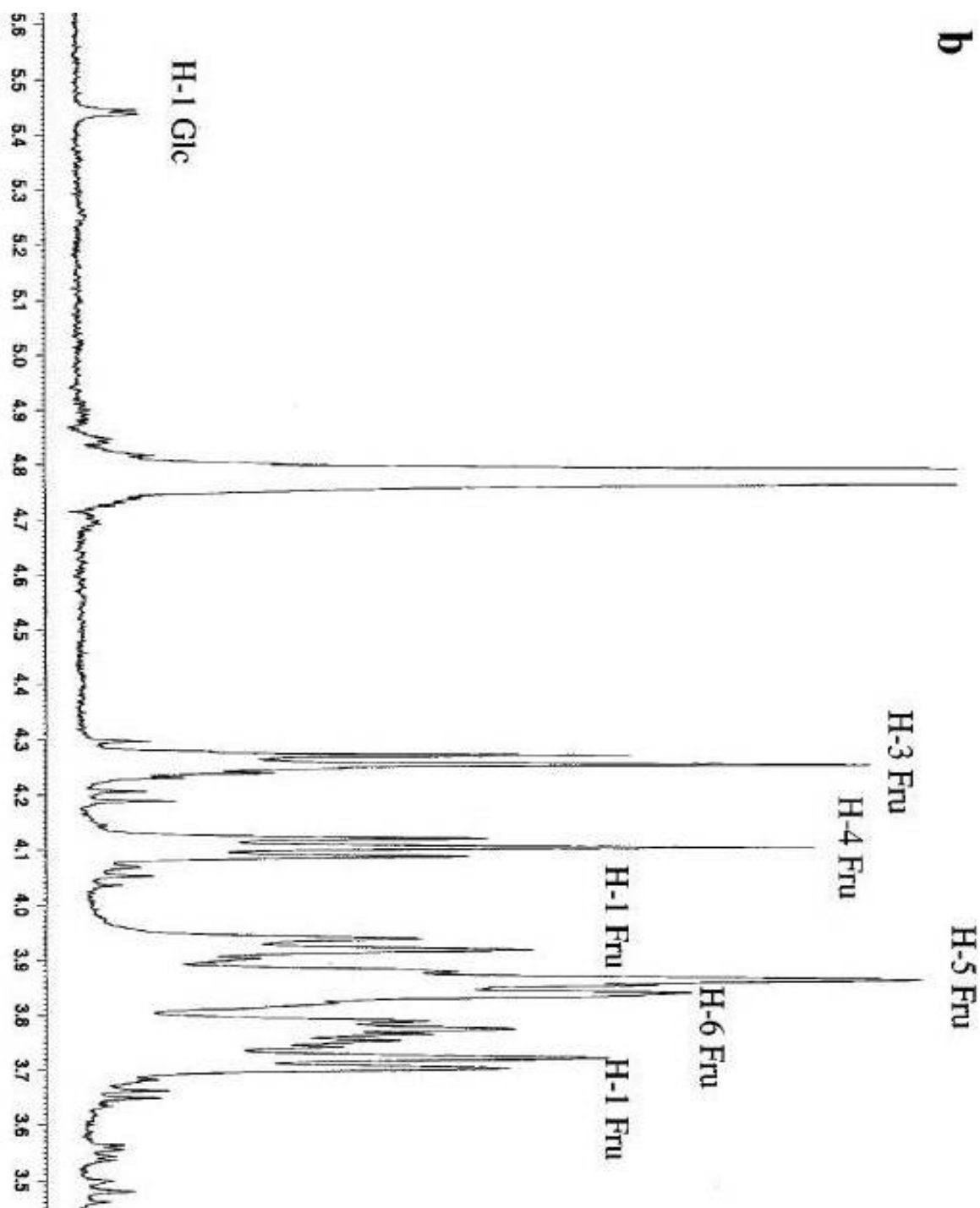
Instituto de Química, UNAM (H. Rios)
 Dr-M-Jimenez/Adriana
 Clave: MJE/HMA-63
 No-Registro: 3277
 Experimento: HMBC
 Disolvente: D2O
 Varian-Inova 500 MHz(G)
 Sept-13-2004
 Pulse Sequence: gHMBC



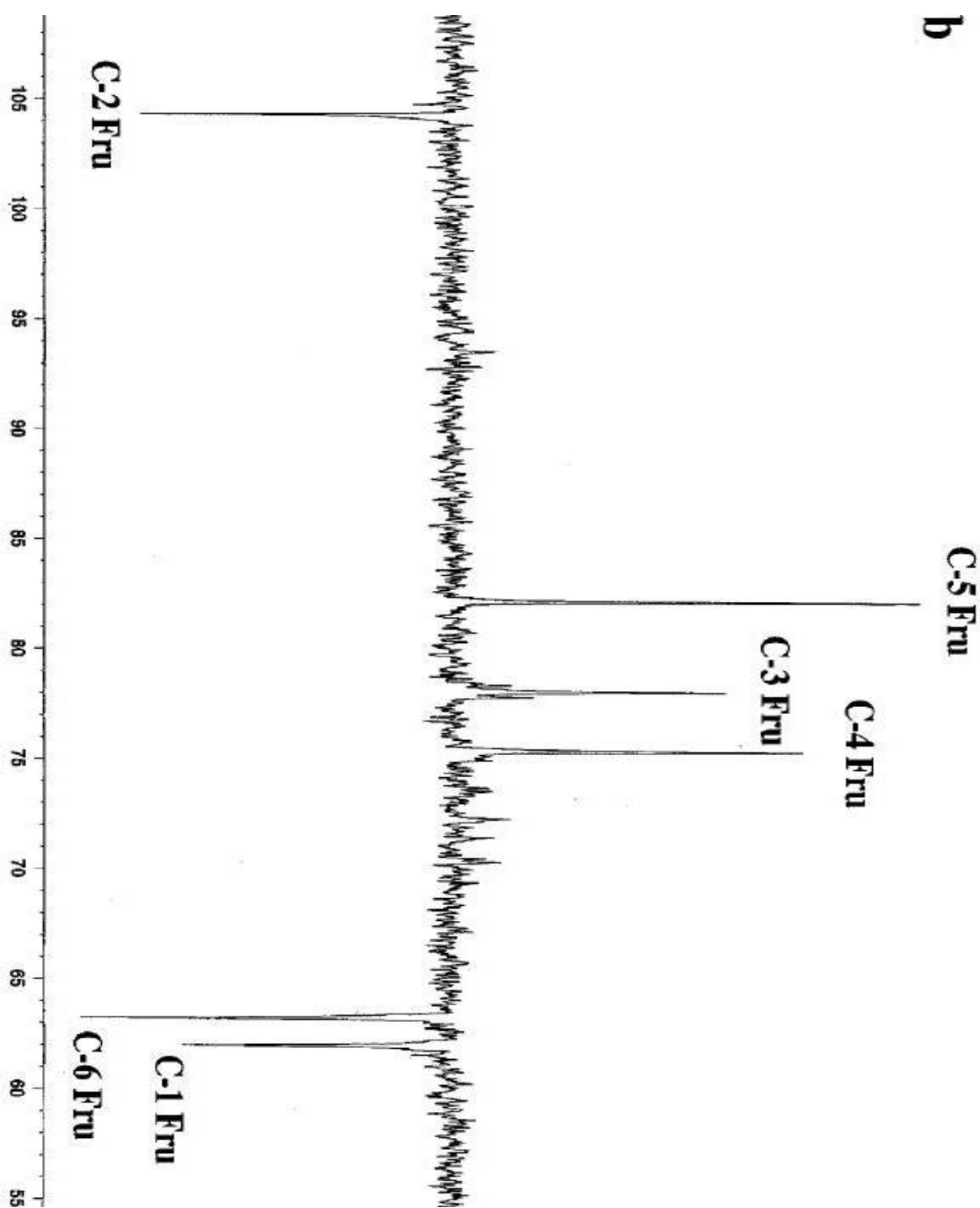
Espectro 14. Experimento HMBC de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido por CC en sílica gel



Espectro 15. Espectro MALDI-TOF de la fracción 63 purificada del residuo activo obtenido por CC en sílica gel



Espectro 16. Espectro de RMN ^1H de la MmF01 de *M. maritima* (modificado con base en Cérantola et al, 2004)



Espectro 17. Espectro de RMN ^{13}C de la MmF02 de *M. maritima* (modificado con base en Cérantola et al, 2004)