

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TÍTULO:

Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en *Cnidioscolus chayamansa* (Chaya), *Euphorbia prostrata* (Hierba de la Golondrina) y *Jatropha dioica* (Sangre de Drago).

Por

M.C.B. RAMÓN VALENZUELA SOTO

**QUE PRESENTA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON
ACENTUACIÓN EN QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES**

SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, N.L.

Octubre 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en *Cnidocolus chayamansa* (Chaya), *Euphorbia prostrata* (Hierba de la Golondrina) y *Jatropha dioica* (Sangre de Drago).

Comité de Tesis

Presidente: Dra. María Eufemia Morales Rubio

Vocal: Dra. María Julia Verde Star

Vocal: Dra. Azucena Oranday Cárdenas

Vocal: Dr. Jaime Fco. Treviño Neávez

Secretaria: Dra. Ruth A. Garza Padrón

San Nicolás de los Garza, N.L.

Octubre 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

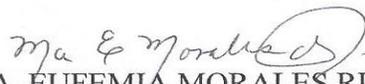


Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en *Cnidioscolus chayamansa* (Chaya), *Euphorbia prostrata* (Hierba de la Golondrina) y *Jatropha dioica* (Sangre de Drago).

Por
M.C.B. RAMÓN VALENZUELA SOTO

QUE PRESENTA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON
ACENTUACIÓN EN QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES

Este trabajo de investigación fue realizado en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango y en el Laboratorio de Fitoquímica y el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila, bajo la dirección de:


DRA. MA. EUFEMIA MORALES RUBIO
DIRECTOR INTERNO

DR. JUAN RAMÓN ESPARZA RIVERA
DIRECTOR EXTERNO

San Nicolás de los Garza, N.L.

Octubre 2014

DEDICATORIA

A DIOS

Gracias a ti señor por estar a mi lado en todo momento y gracias por tenerte en mi camino “Señor tu delante de mi camino y yo detrás de ti”

A MIS PADRES: Ramón Valenzuela Carrillo y Ma. Dora Velia Soto Montejano.

Mis padres que siempre me brindaron su apoyo incondicional así como sus consejos de nunca dejarme vencer ante ningún problema sino siempre enfrentarlos y vencerlos y gracias a ustedes pude llegar a un buen término mis estudios de postgrado.

A MI HERMANA: María Virginia Valenzuela Soto

A quien me brindó su apoyo, ayuda y conocimientos en las dudas que yo tenía al momento de realizar esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Eufemia Morales Rubio por todo el apoyo, conocimiento y motivación brindados cuando más lo necesitaba para realizar este trabajo de investigación

A la Dra. María Julia Verde Star por el apoyo y la gran oportunidad que me brindo para realizar el Doctorado y el cual el día de hoy termina su ciclo.

A la Dra. Azucena Oranday Cárdenas por sus orientaciones, consejos observaciones y disponibilidad en todo momento para realizar este proyecto.

Al Dr. Jaime Fco. Treviño y a la Dra. Ruth A. Garza, por la revisión de este trabajo.

Al Dr. Juan Ramón Esparza Rivera por todo el apoyo, tiempo y conocimiento brindado en todo momento al realizar este trabajo en los laboratorios de investigación.

Gracias a todos los que intervinieron en este proyecto porque de una u otra manera contribuyeron en la realización del mismo.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES (OPCIONAL)

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada número 321087

Al laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Al laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango.

Al laboratorio de Fitoquímica y al Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Sección	Contenido	Pág.
1.	RESUMEN	1
2.	ABSTRACT	3
3.	INTRODUCCIÓN	4
4.	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	6
5.	HIPÓTESIS	7
6.	OBJETIVO GENERAL	8
6.1	OBJETIVOS PARTICULARES	8
7.	ANTECEDENTES	9
7.1	MEDICINA TRADICIONAL EN AMÉRICA LATINA	10
7.2	ESPECIES EMPLEADAS	10
7.2.1	<i>Cnidocolus chayamansa</i> (CHAYA)	10
7.2.1.1	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	11
7.2.1.2	COMPOSICIÓN DE LA <i>Cnidocolus chayamansa</i> (CHAYA)	11
7.2.1.3	EFEECTO HIPOGLICEMIANTE	12
7.2.1.4	TOXICIDAD	13
7.2.2	<i>Euphorbia prostrata</i> (HIERBA DE LA GOLONDRINA)	13
7.2.2.1	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	14
7.2.2.2	ETNOBOTÁNICA Y ANTROPOLOGÍA	14
7.2.2.3	METABOLITOS IDENTIFICADOS	15
7.2.2.4	TOXICIDAD	15
7.2.3	<i>Jatropha dioica</i> (SANGRE DRAGO)	15
7.2.3.1	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	16
7.2.3.2	USOS ENDÉMICOS DE <i>Jatropha dioica</i>	16
7.2.3.3	ASPECTO QUÍMICO DE <i>Jatropha dioica</i>	16
7.3	FITOQUÍMICA	17

7.3.1 ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN	18
7.3.2 FENOLES, ÁCIDOS FENÓLICOS Y ÁCIDOS FENIL ACÉTICOS	18
7.3.3 ÁCIDOS CINÁMICOS, CUMARINAS, ISOCUMARINAS Y CROMONOLES	19
7.3.4 LIGNANOS Y NEOLIGNANOS	19
7.3.5 FLAVONOIDES	19
7.3.6 TANINOS	20
7.3.6 TOXICIDAD	20
7.4 DIABETES	21
7.4.1 TIPOS DE DIABETES	21
7.4.1.1 DIABETES TIPO 1	22
7.4.1.2 DIABETES TIPO 2	22
7.4.2 EPIDEMIOLOGÍA	23
7.4.3 DIAGNÓSTICO	23
7.4.4 FACTORES DE RIESGO	24
7.4.5 COMPLICACIONES	24
7.4.6 INSULINA	25
7.4.7 TRATAMIENTO PARA LA DIABETES	26
7.4.7.1 TERAPIA FARMACOLÓGICA	27
7.4.7.2 TRATAMIENTO CON INSULINA	27
7.4.8 METABOLISMO DE LA GLUCOSA	28
7.4.9 BIOENSAYO DE LETALIDAD DE <i>Artemia salina</i>	28
8. MATERIAL Y MÉTODOS	29
8.1 MATERIAL BIOLÓGICO	29
8.2 PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	29
8.3 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	29
8.4 BIOENSAYO DE LETALIDAD CON NAUPLIOS DE <i>Artemia salina</i>	30
8.5 CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE FENÓLICOS TOTALES	31
8.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	31

8.6.1 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EQUIVALENTE EN TROLOX POR EL MÉTODO DPPH ⁺ (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL RADICAL)	31
8.6.2 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EQUIVALENTE EN TROLOX POR EL MÉTODO ABTS ^{•+} (2,2'-AZINO-BIS(3-ETHYLBENZOTHIAZOLINE-6-SULPHONIC ACID))	32
8.7 INDUCCIÓN DE DIABETES EN RATAS WISTAR	32
8.8 DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO DE EVALUACIÓN DE EFECTO HIPOGLICÉMICO DE EXTRACTOS DE CHAYA, HIERBA DE LA GOLONDRINA Y SANGRE DE DRAGO EN RATAS WISTAR	33
8.9 DETERMINACIÓN DE GLUCOSA SÉRICA	33
8.10 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (HPLC)	34
8.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
9. RESULTADOS	35
9.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	35
9.2 IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL DE ESTUDIO	35
9.3 BIOENSAYO DE TOXICIDAD SOBRE NAUPLIOS DE <i>Artemia salina</i>	35
9.4 CUANTIFICACIÓN DE FENOLICOS TOTALES	39
9.5 ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE EXTRACTOS ACUOSOS	40
9.6 DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS	42
DISCUSIONES	44
CONCLUSIONES	46
BIBLIOGRAFÍA	47

INDICE DE FIGURAS

Figura No	Contenido	Página
1	A y B. Resultados de la concentración de toxicidad (DL ₅₀) de extracto acuoso de <i>C. chayamansa</i> (Chaya)	36
2	A y B. Resultados de la concentración de toxicidad (DL ₅₀) de extracto acuoso de <i>J. dioica</i> (Sangre de drago)	37
3	A y B. Resultados de la concentración de toxicidad (DL ₅₀) de extracto acuoso de <i>E. prostrata</i> (Hierba de la Golondrina)	38
4	Resultados de la cuantificación de glucosa en sangre de ratas diabéticas tratadas con infusiones de <i>J. dioica</i> , <i>C. chayamansa</i> y <i>E. prostrata</i> ; con glibenclamida, y no tratadas.	41
5	Peso de ratas diabéticas tratadas con infusiones de <i>J. dioica</i> , <i>C. chayamansa</i> y <i>E. prostrata</i> ; con glibenclamida, y no tratadas.	41
6	Resultados de la posible presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en <i>C. chayamansa</i> (Chaya)	42
7	Resultados de la posible presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en hierba de <i>E. prostrata</i> (Hierba de la Golondrina).	42
8	Resultados de la posible presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en <i>J. dioica</i> (Sangre de drago)	43

INDICE DE TABLAS

Tabla No	Contenido	Página
1	Resultados de la cuantificación de la actividad antioxidante de infusiones de <i>J. dioica</i> , <i>C. chayamansa</i> y <i>E. prostrata</i> .	39
2	Resultados de la posible presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en infusiones de <i>J. dioica</i> , <i>C. chayamansa</i> y <i>E. prostrata</i> . (+) Posible presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides. (-) Posible ausencia de compuestos antioxidantes y flavonoides.	40

1. RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónico-degenerativa con prevalencia de 6.5 y 10 millones de personas en México. En los últimos años se ha incrementado el interés de las plantas medicinales como una opción para la obtención de nuevos productos farmacéuticos con menores efectos adversos en la salud de pacientes. Estudios recientes han demostrado que los compuestos activos presentes en extractos de *C. chayamansa* (Chaya), *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina) y *J. dioica* (Sangre de Drago) tienen propiedades antioxidantes. Sin embargo, se desconoce si los extractos de estas plantas contienen compuestos fitoquímicos (fenólicos y/o terpenoides) con capacidad hipoglucemiante. Se recolectaron muestras de *C. chayamansa* (Chaya), *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina) y *J. dioica* (Sangre de Drago), las cuales fueron secadas a temperatura ambiente en un área cerrada y ventilada, se preparó una solución 1:5 (p-v) de muestra seca en agua destilada estéril, posteriormente se filtró y se almacenó a 5 °C hasta su aplicación para determinar DL₅₀ y efecto hipoglucemiante. El contenido fenólico de los extractos se midió por el método Folin-Ciocalteau, ABTS y DPPH, y La identificación y cuantificación de compuestos antioxidantes y flavonoides se realizó mediante métodos cromatográficos (HPLC). Los resultados de los fenólicos solubles en agua mostraron en chaya 6.34 mg equivalente de ácido gálico/gm BS, hierba de la golondrina 10.67 mg equiv. de ácido gálico/gm BS y sangre de drago 1.83 mg equiv de ácido gálico/gm BS, para antioxidantes solubles en agua por el método ABTS revelaron para chaya 5.9 mM equiv. de trolox/gr BS, hierba de la golondrina 12.7 mM equiv. de trolox/gr BS y sangre de drago 2.5 mM equiv. de trolox/gr BS, y en antioxidantes solubles en metanol por el método DPPH mostraron en chaya 1.10 mM equiv. de trolox/gr BS, hierba de la golondrina 9.53 mM equiv. de trolox/gr BS y sangre de drago 1.03 mM equiv. de trolox/gr BS. Los ensayos de toxicidad revelan resultados no relevantes. Los niveles de glucosa al final del tratamiento en el modelo biológico (ratas Wistar) indicaron para el control sano 79.8mg/dl, control diabético sin tratamiento 394.6mg/dl, control diabético con tratamiento (glibenclamida 5 mg/kg) 189.8mg/dl, tratamiento con chaya 109.4mg/dl, hierba de la golondrina 113.6mg/dl, y sangre de drago 115.6 mg/dl. En el análisis realizado con el HPLC para los extractos se identificó por tiempo de retención la presencia de catequina, epicatequina, y ácido *p*-hidroxibenzoico en chaya catequina, epicatequina, ácido clorogénico, ácido siríngico,

rutina, y ácido *p*-hidroxibenzoico en hierba de la golondrina y catequina, epicatequina, ácido clorogénico, ácido siríngico, rutina, ácido gálico, y ácido *p*-hidroxibenzoico en sangre de drago.

2. ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic degenerative disease with prevalence of 6.5 and 10 million people in Mexico. In recent years has increased the interest of medicinal plants as an option for the obtaining of new pharmaceutical products with minor adverse effects on the health of patients. Recent studies have shown that the active compounds present in extracts of *C. chayamansa*, *E. prostrata* and *J. dioica*, have antioxidant properties. However, is unknown, if this plant extracts contain phytochemical compounds (phenolics or Terpenoids) with capacity hypoglycemic. Will collect plants of these species and were dried at room temperature in a ventilated area, then a solution 1:5 (p-v) of dry sample in distilled water sterile was prepared, then filtered and stored at 5 ° C. The content phenolic of extracts was determinate by the Folin-Ciocalteau, ABTS and DPPH method , and Identification and quantification of flavonoids and antioxidant compounds was performed using methods chromatographic (HPLC). Water-soluble phenolics showed in *C. chayamansa* 6.34 mg equivalent of acid Gallic/gm BS, for *E. prostrata* 10.67 mg equiv. of acid Gallic/gm BS and for *J. dioica* 1.83 mg equiv. of acid Gallic/gm BS. For antioxidants, soluble in water by the ABTS method revealed to *C. chayamansa* 5.9 mM (equiv.). trolox/g BS, for *E. prostrata* 12.7 mM (equiv.). trolox/g BS and *J. dioica* 2.5 mM (equiv.). trolox/g BS, and antioxidant, soluble in methanol by the DPPH method showed in *C. chayamansa* 51.10 mM (equiv.). trolox/g BS, *E. prostrata* 9.53 mM (equiv.). trolox/g BS and *J. dioica* 1.03 mM (equiv.). trolox/g BS. The toxicity tests reveal no relevant search results. Glucose levels at the end of the treatment in the biological model (Wistar rats) indicated for healthy control 79.8mg/dl, untreated diabetic control 394.6mg/dl, diabetic control with treatment (glibenclamide 5 mg/kg) 189.8mg/dl, treatment with chaya 109.4mg/dl, the swallow wort 113.6mg/dl, and drago 115.6mg/dl blood. In the analysis performed with the HPLC for extracts were identified by retention time the possible presence of catechin, epicatechin and *p*-hydroxybenzoic acid in *C. chayamansa*, catechin, epicatechin, chlorogenic acid, syringic acid, rutine and *p*-hydroxybenzoic acid in *E. prostrate*, catechin, epicatechin, chlorogenic acid, syringic acid, rutine, gallic acid and *p*-hydroxybenzoic acid in *J. dioica*

3. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónico-degenerativa con una prevalencia del 6% en adultos a nivel mundial mientras que en México es del 9-10% que equivalen aproximadamente a 6.5 y 10 millones de personas con esta enfermedad (INEGI, 2002). A nivel nacional, representa uno de los principales problemas de salud pública por el impacto económico y social que generan las complicaciones crónicas de tipo microvascular como la retinopatía, nefropatía y neuropatía periférica que afecta nervios de pies y manos, y de tipo macrovascular como la enfermedad cerebro-vascular y la cardiopatía isquémica, esta última considerada la primera causa de mortalidad en nuestro país (Barquera *et al.*, 2003; Dorantes y Martínez, 2004)

La diabetes es un síndrome que manifiesta un trastorno metabólico que cursa con hiperglucemia, la que a su vez es consecuencia de una deficiencia en la secreción de insulina o en el efecto biológico de la misma. Es una enfermedad relevante desde el punto de vista individual, familiar y comunitario, ya que produce diversos grados de incapacidad e induce cambios en la dinámica social del individuo, motivándolos por las incomodidades de un tratamiento y control de por vida (Ricciardi, 2005). Desde el punto de vista epidemiológico su frecuencia, prevalencia y mortalidad señalan con claridad que se trata de un problema de salud pública de primera magnitud en la República Mexicana por lo cual esta enfermedad es más frecuente en los grupos sociales con estilo de vida urbano (Soca, 2009). La esperanza de vida de un individuo diabético es de dos tercios de la esperada, mientras que los pacientes con complicaciones crónicas tienen el doble de posibilidades de morir con referencia a la población general. (Pedrozo *et al.*, 2008). Para el control de la diabetes existen medidas dietéticas y cambios de estilo de vida, además de medicamentos, lo que sumado a una vigilancia adecuada, su aparición y desarrollo de complicaciones se pueden reducir de una manera importante (Cornejo, 2008). En el año 2005 se bajó el umbral de la glicemia en ayunas desde 6,1 a 5,6 $\mu\text{mol/L}$, de acuerdo con los criterios de la *American Diabetes Association* (ADA) para la intolerancia a la glucosa (Liberopoulos *et al.*, 2005). Así pues, recientemente se ha evaluado la potencial aplicación de la medicina herbolaria en la búsqueda de nuevas alternativas que eleven la calidad de vida del enfermo diabético y reduzcan los efectos secundarios de los medicamentos. En México se conocen alrededor de 150 plantas que han sido tradicionalmente utilizadas para el tratamiento de la

diabetes, incluyendo a la *C. chayamansa* (chaya), *E. prostrata* (hierba de la golondrina) y *J. dioica* (sangre de drago), las cuales pertenecen a la familia Euphorbiaceae. En América se encuentran alrededor de 50 especies pertenecientes a los géneros *Cnidoscolus*, *Euphorbia* y *Jatropha*, las cuales se encuentran distribuidas desde México hasta el norte de América del Sur (Delgado *et al.*, 1994), encontrándose que el látex de algunas especies de estos géneros han sido regularmente utilizadas para el tratamiento de callosidades y cataratas (Brum *et al.*, 1998; Ross-Ibarra *et al.*, 2002; Quezada *et al.*, 2006). Por otra parte, en algunas ciudades del oriente de Venezuela se ha reportado que preparados de hojas frescas de la sangre de grado han sido utilizados para el tratamiento del cáncer (Donkoh, *et al.*, 1990). Algunos de los principales usos que se reportan de las plantas *C. chayamansa*, *E. prostrata* y *J. dioica* incluyen el consumo de hojas y cogollos cocinados, además de su uso en alimentación de animales como cabras y cerdos. Las hojas de estas plantas han sido utilizadas con fines medicinales para tratamiento de diversos padecimientos como falta de memoria y artritis (Annan, 1997; Molina *et al.*, 1997).

4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La diabetes es un problema de salud de gran preocupación para la sociedad debido al elevado costo humano y económico resultante del tratamiento médico de este padecimiento, por lo cual en el último decenio ha renacido el interés por el uso de la medicina naturista tradicional como alternativa para la prevención y/o tratamiento de la diabetes. Por ejemplo, en China, Chile, Colombia y la India recurren regularmente al uso de plantas medicinales para atender sus necesidades primarias de salud (OMS, 2003). En la actualidad el uso de plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo a la diabetes, tiene una gran importancia en México, aunque generalmente no se tiene suficiente evidencia científica que apruebe el uso terapéutico de dichas plantas.

Estudios recientes han demostrado que algunos fitoquímicos presentes en los extractos de las hojas de *C. chayamansa* (chaya), *E. prostrata* (hierba de la golondrina) y *J. dioica* (sangre de drago) tienen propiedades antioxidantes. Sin embargo los resultados obtenidos respecto a la aplicación de extractos de estas tres plantas como agentes hipoglicemiantes no han sido concluyentes, por lo que es necesario realizar más estudios para comprobar dichas propiedades en estas plantas.

5. HIPÓTESIS

Los compuestos presentes en los extractos acuosos de *C. chayamansa* (chaya), *E. prostrata* (hierba de la golondrina) y *J. dioica* (sangre de drago) tienen capacidad hipoglucemiante.

6. OBJETIVO GENERAL:

Identificar compuestos con capacidad hipoglucemiante en extractos acuosos de *C. chayamansa* (chaya), *E. prostrata* (hierba de la golondrina) y *J. dioica* (sangre de drago).

6.1 OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Colectar material vegetal, identificar y obtener Voucher de herbario.
2. Procesar material vegetal para la obtención de los extractos acuosos
3. Determinar la actividad tóxica *in vitro* de los extractos acuosos con el ensayo de letalidad con *Artemia salina* en micro placa.
4. Cuantificar la cantidad de fenoles totales.
5. Determinar la actividad hipoglucemiante de extractos acuosos de *C. chayamansa* (chaya), *E. prostrata* (hierba de la golondrina) y *J. dioica* (sangre de drago) en un Modelo *in vivo* (Ratas Wistar con diabetes inducida mediante estreptozotocina).
6. Identificar los compuestos de los extractos activos de las plantas en estudio por método espectrofotométrico y HPLC .

7. ANTECEDENTES

No sabemos cómo se comenzaron a utilizar las plantas medicinales pero sí desde cuándo: en la Prehistoria, hace unos 60.000 años atrás. En aquellos días, donde no existían las grandes cadenas de hipermercados ni las cadenas de farmacias abiertas las 24 hs., el hombre tenía que satisfacer todas sus necesidades con los recursos que la naturaleza le ofrecía. Seguramente, la búsqueda de alimento en el reino vegetal, lo llevó a descubrir por azar que algunas plantas en lugar de ser comestibles eran venenosas, mientras que otras le producían efectos diversos: aliviar el dolor de una articulación o aumentar el sudor. La prueba más antigua que existe sobre el uso de las plantas como medicinas en el Paleolítico medio fue encontrada en 1960 por Ralph Solecki, al descubrir una tumba con varios restos fósiles de neandertales en la cueva de Shanidar, situada en las montañas de Zagros (Irak).

El primer escrito de naturaleza científica en la época clásica es *De Materia Médica*, escrita por Dioscórides. Este médico griego, trabajaba con los romanos como botánico, lo que le permitió viajar mucho. Durante sus viajes estudió las propiedades de más de 600 plantas y de muchos principios químicos y su obra sirvió de referencia hasta el siglo XV (Barquero A.A. 2007).

El uso de plantas para tratar enfermedades tiene una larga y venerable historia. Sobre centurias las poblaciones indígenas del mundo han desarrollado sofisticados sistemas sociales y tradiciones culturales, a través de tradición oral y conocimiento empírico, han adquirido y reunido un detallado conocimiento sobre el uso de las plantas medicinales, el cual ha sido transmitido de generación en generación (Abel y Busia, 2005).

Tal ha sido el éxito de las plantas como fuente para aislar compuestos bioactivos para su uso directo o como precursores de moléculas modificadas por síntesis química para producir nuevas entidades patentables con mayor actividad y/o menor toxicidad que, en la actualidad, casi el 25% de los fármacos que se prescriben contienen uno o más principios activos derivados de alguna planta, según datos del *National Prescription Audit* de los Estados Unidos obtenidos sólo de farmacias (Pushpam, 2004)

7.1 MEDICINA TRADICIONAL EN AMÉRICA LATINA

La utilización de la llamada medicina tradicional en países de América Latina ha entrado en una nueva etapa. Con el impresionante incremento de la demanda de alternativas terapéuticas ajenas en conceptos y prácticas al modelo científico biomédico, la medicina tradicional se encuentra enmarcada hoy día en un contexto que hace algunos años no existía (Taddei-Bringas, 1999). Actualmente, la medicina tradicional representa una opción importante de repuesta ante las necesidades de atención a la salud en diferentes países de América Latina y el Caribe a pesar de su presencia subordinada en los sistemas oficiales de salud y de la situación de ilegalidad que comúnmente guardan. Esta participación ha sido reconocida por organizaciones internacionales de salud como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la propia Organización Panamericana de la Salud (OPS) de quienes han emanado intentos de apoyo y promoción de políticas dirigidas a ensayar formas distintas de articulación de esta medicina con los sistemas oficiales de salud, enfocadas primordialmente en la atención primaria a la salud (Nigenda and Mora, 2001)

7.2 Especies empleadas

7.2.1 *Cnidoscolus chayamansa* (Chaya).



La chaya es una verdura cultivada en la región Maya de Guatemala, Belice, el Sureste de México, península de Yucatán y partes de Honduras. Aunque es poco conocida afuera de esta región, la evidencia sugiere que la chaya era una planta importante para los antiguos Mayas de la península de Yucatán y tal vez en otras partes de la región Maya (Loarca *et. al.*, 2010). Las hojas son amplias y pueden consistir en 3 o más lóbulos, sus flores son blancas. Las semillas y la fruta madura son raras y desconocidas (McVaugh, 1994). Dada la facilidad de cultivarla, su productividad potencial, y sobre todo alto valor nutritivo, se ha propuesto a la chaya como cultivo potencial para regiones afuera de Mesoamérica (Kuti and Torres, 1996; Molina *et al.*, 1997; Ross and Molina, 2002). Se conocen cinco variedades de chaya, tres de las llamadas mansas y dos silvestres. De las tres primeras una es de hoja más delgada y contiene menos vellosidades urticantes, la cual es la más utilizada para consumo humano. La variedad silvestre contiene hojas más largas y presenta más espinas que la variedad mansa (Díaz, 1975).

7.2.1.1 Descripción Botánica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Subfamilia: Crotonoideae

Tribu: Manihoteae

Género: *Cnidoscolus*

Especie: *C. chayamansa*

7.2.1.2 Composición de la *Cnidoscolus chayamansa* (Chaya)

La chaya puede ser considerada como un suplemento alimenticio por su alto contenido de proteínas (5.7% base húmeda), fibra cruda (1.9%), calcio (199.4 mg/100g), potasio (217.2 mg/100g), hierro (11.4 mg/100g), vitamina C (164.7 mg/100g) y caroteno (0.085 mg/100g). En términos de valores nutricios la chaya es superior a la acelga, la lechuga, los berros y la col (Kuti and Torres, 1996). Otro estudio realizado por Ventura

(2004) demostró que existe diferencia en la composición nutrimental en tres diferentes isotipos de hojas de chaya.

Por otro lado se ha reportado que las hojas crudas contienen glucósidos cianogénicos, los cuales son tóxicos pues forman ácido cianhídrico, pero este es eliminado en el vapor y no permanece en el agua de cocción (Molina *et. al.*, 1999). Los mayas usaban las hojas de chaya junto con el maíz para obtener una dieta rica en proteínas, vitaminas y otros compuestos (Booth *et. al.*, 1992).

Las infusiones de la hoja de chaya se han usado desde tiempos precolombinos para el tratamiento de la arteriosclerosis, cálculos renales, hemorroides, para mejorar la función del hígado, de la circulación y de la digestión. La chaya se ha recomendado tradicionalmente para el tratamiento de la diabetes (Díaz, 1975).

7.2.1.3 Efecto hipoglicemiante

En un estudio realizado por Kuti y Torres (1996) se evaluó el efecto del té de chaya (10 g de hojas por litro de agua) administrado *ad libitum* a conejos sanos y diabéticos inducidos con estreptozotocina, en este experimento se observó que el nivel de glucosa en ayuno disminuyó gradualmente después de 6 horas de iniciado el experimento. Sin embargo, la dosis eficaz y el mecanismo de actividad hipoglucemiante no fueron evaluados.

En otro estudio realizado por Alarcón *et. al.*, (1998) se utilizó la *Cnidocolus chayamansa* (Chaya) para determinar su efecto antihiper glucémico. En este experimento se utilizaron dos grupos de conejos sanos, machos, adultos de Nueva Zelanda, el primer grupo fue el control y el segundo fue el grupo tratado con el preparado de la planta. Se practicó una curva de tolerancia a la glucosa, la glucosa fue administrada vía subcutánea y el preparado de la planta (40 g de hoja seca en 300 ml de agua a ebullición por 10 minutos) se administró por vía intragástrica. Se tomaron muestras de sangre cada 60 minutos durante 5 horas, los resultados no confirmaron que dichos extractos manejados en el estudio tuvieran actividad hipoglicemiante.

7.2.1.4 Toxicidad

La chaya es una buena fuente de proteínas, vitaminas, calcio, y de hierro. Sin embargo, las hojas crudas de chaya son tóxicas pues contienen un glucósido que pueden liberar al tóxico cianuro. El cocinarla es esencial antes de consumirla para hacer inactivos los componentes tóxicos; en esto la chaya es similar a la mandioca, que también contiene los glucósidos cianhídricos tóxicos y debe ser cocinada antes de comerla (Stephens, 1994).

7.2.2 *Euphorbia prostrata* (Hierba de la Golondrina).



Con aproximadamente 250 especies (Martínez-Gordillo *et.al*, 2002; Steinmann, 2002), *Euphorbia* es uno de los géneros más grandes en América y del Viejo Mundo. Representa un importante centro de diversidad del género; Es una planta pequeña originaria del norte del país como Sonora y Nayarit, y en los del centro del país como el Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Puebla y Tlaxcala, habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado, desde el nivel del mar hasta los 2240 m. Cultivada en huertos, crece en terrenos de cultivos, bosques tropicales, de encino, de pino y mixto de encino-pino. Tiene tallos de color rosa ó púrpura, con pelos y jugo lechoso; las hojas son simples, y sólo en algunas especies de *Euphorbia* son opuestas; Generalmente presentan glándulas de diversas formas en el pecíolo. Las flores son unisexuales y generalmente apétalas; el ovario es súpero, sincárpico y en la mayoría de

géneros formado por tres carpelos, que contienen uno o dos óvulos. Esta familia se caracteriza por presentar látex o exudado coloreado y estípulas de diversas formas (Cardiel, 1995).

7.2.2.1 Descripción Botánica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Subfamilia: Euphorbioideae

Tribu: Euphorbieae

Género: *Euphorbia*

Especie: *E. prostrata*

7.2.2.2 Etnobotánica y antropología.

El uso de esta planta se menciona en estados del norte como Sonora y Nayarit, y en los del centro del país como el Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Puebla y Tlaxcala. Su uso principal es para las enfermedades oculares como ojos llorosos o nubes. Se curan exprimiendo dos o tres hojas de la planta en los ojos, esto se hace por las noches hasta que se siente mejoría, cuidando de no recibir una corriente fría. En cambio para desaparecer granos que nacen cerca de los ojos, se exprime el jugo del tallo y se aplica un poco directamente en éstos; Como oftálmico, se usa exprimiendo directamente el látex en la parte afectada; de la misma forma se emplea para manchas en la córnea, lagañas y lagunas en los ojos (Rentería, 1994). También se indica en trastornos digestivos como diarrea, empacho, calor en el intestino, flatulencia, estreñimiento, disentería, inflamación en el estómago y mal de boca. Se reporta útil para lavados vaginales después del parto así como en piquetes de arlomo, granos, erupciones de la piel, picadura de alacrán, heridas y dolor de riñones. Para los anteriores padecimientos la forma más común de uso es suministrándola como té. Sólo en Yucatán, se le utiliza contra el mal de ojo, macerando las hojas con orina (Murillo and Franco, 1995).

7.2.2.3 Metabolitos identificados

En las hojas se han identificado algunos componentes fenólicos y terpenoides y en las partes aéreas de la planta se ha detectado la posible presencia de triterpenos, taninos, resinas y gomas, y componentes cianogénicos (Murillo, 1999).

7.2.2.4 Toxicidad

Existen reportes de intoxicación donde los animales presentan severas diarreas y debilidad extrema después de un consumo excesivo de *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina) y se describen que el látex de esta planta provoca irritación de las mucosas y el aceite de las semillas es purgante (Aguilar C. A. and Zolla C. 1982)

7.2.3 *Jatropha dioica* (Sangre Drago)



J. dioica es una planta originaria de México, también comúnmente conocida como sangre de drago, sangre de grado o sangregado. Es un arbusto de 50 cm a 1.50 m de altura y debe su nombre común a que tiene un jugo incoloro que cambia a oscuro al contacto con el

aire. Sus ramas son de color rojizo-moreno con las hojas más largas que anchas. Sus flores son pequeñas y en grupos de color rosa. Los frutos son globosos de 1.5 cm de largo y tienen una semilla en su interior (Ventura et al., 2008; BDMTM, 2009).

7.2.3.1 Descripción Botánica:

Reino: *Plantae*

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Subfamilia: Crotonoideae

Tribu: Jatrophaeae

Género: *Jatropha*

Especie: *J. dioica*

7.2.3.2 Usos endémicos de *Jatropha dioica*

El uso medicinal que con mayor frecuencia se da a *J. dioica* es para evitar la caída del cabello para lo cual se cuecen los tallos, la planta entera o la raíz machacada en agua, y con este líquido se enjuaga el cabello después de lavarlo. Otra forma de uso es hervir la planta para aplicarla en forma de cataplasma, o bien sólo se cuece. El agua resultante de la cocción es utilizada en forma de baños para quitar la sarna o en lavados para aliviar la infección de golpes, heridas y granos, aseando previamente con jabón de pasta neutro (BDMTM, 2009).

7.2.3.3 Aspecto químico de *Jatropha dioica*

J. dioica es una especie muy poco estudiada. Las únicas investigaciones que existen se han hecho por científicos mexicanos en colaboración con extranjeros, siendo relativamente antiguas. En la raíz se han identificado algunos compuestos terpenoides tales como la citlalitrona, jatrofona, y riolosatriona y un esteral, el R-sitosterol. De las raíces se

obtiene aceite esencial, resina, saponinas, un alcaloide y ácido oxálico. De los tallos emana un látex con algunas cualidades antisépticas debido a la posible presencia de algunos compuestos fenólicos y terpenoides (Chen Zp, 1994). Además algunos de estos compuestos presentes en los extractos acuosos de la raíz cuentan con posible actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* (BDMTM, 2009).

Aguilera *et al.* (2008) cuantificaron uno de los compuestos fenólicos y terpenoides presentes en *J. dioica*, por lo que se podría considerar como una fuente alternativa de propiedades relacionadas a la salud, como acciones antiesteroescleróticas, propiedades anticarcinogénicas resultando en una posible reducción de cáncer de colon humano, próstata, cervical, lengua, esófago y piel, además de ser utilizado en la industria alimentaria como posible agente antioxidante. Por lo cual se realiza la importancia de la investigación de *J. dioica* al pensar en la presencia de compuestos distintos aún no explorados y con mayor relevancia, además de un posible efecto hipoglicemiante.

Pérez *et al.* (2008) resaltan que el aprovechamiento sustentable de los recursos del semidesierto mexicano puede ser asegurado mediante una explotación controlada de las fuentes naturales y el empleo de técnicas de obtención en las cuales los daños a la salud y el medio ambiente sean disminuidos.

7.2.3.4 Toxicidad

La acción citotóxica de *J. dioica* (Sangre Drago) se encuentra a concentraciones cercanas a 300 ng/ml aproximadamente el cual es un factor inflamatorio importante, además se encontró que el clorhidrato de *J. dioica* muestra efecto letal en células a concentraciones por encima de 3000 ng/ml, tóxico entre 3000-500 mg/ml y tóxico débil a menos de 500 ng/ml. Se observa una acción letal a concentraciones mayores de 1000 ng/ml y tóxico incluso a 250 ng/ml, existe un efecto inhibitorio sobre la proliferación celular hasta 100 ng/ml (Bruneton, 2000; Carballo, H. 2007).

7.3 Fitoquímica

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras

químicas y actividad, englobando más de 8,000 compuestos distintos (Martínez-Valverde, *et al.*, 2000). Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales (Shahidi and Naczk, 1995).

7.3.1 Estructura química y clasificación

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Tsimidou, *et al.*, 1998). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos (Shahidi and Naczk, 1995). Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Bravo, 1998).

Según Harborne (1989), los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, describiéndose a continuación aquellas con un mayor interés nutricional.

7.3.2 Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos

Dentro de este grupo los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainillínico, *p*-hidroxibenzoíco, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Por el contrario existe

poca información en la literatura científica sobre los ácidos fenilacéticos en los vegetales (Belitz and Grosch, 1988).

7.3.3 Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles

Los ácidos cinámicos (cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general se encuentran presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeico se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico (Belitz and Grosch, 1988). Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido (Bravo, 1998), mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio (Belitz and Grosch, 1988).

7.3.4 Lignanós y neolignanós

Son metabolitos de las plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de *p*-hidroxi-fenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno (Windholz, 1995). Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno (Chesson *et al.*, 1997). El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano (Windholz, 1995).

7.3.5 Flavonoides

Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos (Harborne, 1993), siendo los polifenoles más distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico. Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, chalconas, dihidrochalconas,

antocianidinas, leucoantocianidinas o flavandioli y proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos estos grupos las flavonas (apigenina, luteolina y diosmetina), los flavonoles (quercitina, mirecitina y kampferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en vegetales (Hertog, *et al.*, 1993).

7.3.6 Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 Y 3000 D. Estos compuestos contienen un gran número de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales (1 a 2 por 100 D), siendo por tanto capaces de unirse a proteínas y a otras macromoléculas. Los taninos pueden clasificarse en dos grupos: taninos hidrolizables y no hidrolizables o taninos condensados. Los taninos condensados tienen como núcleo central un alcohol polihídroxílico como la glucosa, y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente bien con el ácido gálico o bien con el ácido hexahidroxidifénico, formando los galotaninos y elagitaninos, respectivamente. Tras la hidrólisis con ácidos, bases o ciertas enzimas, los galotaninos dan glucosa y ácido gálico (Chung, *et al.*, 1998).

Los antioxidantes, son sustancias que pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto oxidación; estos elementos también tienen la función de eliminar de nuestro organismo los radicales libres. El exceso de radicales libres está relacionado con una mayor incidencia de diversas enfermedades degenerativas (Patricio and Delanty 2000) como cáncer, enfermedades cardiacas, inflamación, artritis, disfunción cerebral, aceleración del envejecimiento, etc. (Finkel and Holbrook 2000).

7.3.6 Toxicidad

El estudio científico de las plantas medicinales pretende reducir los riesgos de su utilización incontrolada, además de comprobar su actividad farmacológica y ampliar su espectro, así como también estandarizar su dosis. Por lo tanto los estudios científicos son los que han de marcar la pauta en el desarrollo de la fitoterapia, ya que la investigación clínica, farmacológica, química y botánica de las plantas es la que sin duda proporcionarán las claves de la utilización segura de las plantas medicinales (Torrice, *et al.*, 2003).

7.4 DIABETES

La diabetes es una alteración del metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, caracterizada por niveles elevados de glucosa debido a fallas o defectos en la acción de la insulina secretada por las células β del páncreas. Esta hormona es necesaria para que las células del organismo puedan utilizar la glucosa como combustible y transformarla en energía (Calderín *et al.*, 2007). Ocasionalmente la diabetes produce síntomas desde su inicio y otras veces no presenta ninguno por lo que puede pasar totalmente inadvertida. La hiperglicemia crónica de la diabetes está asociada con un largo período de daño y disfunción de varios órganos, especialmente de los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos (The Expert Committee, 2002). La Federación Internacional de Diabetes (FID) considera que hay 177 millones de personas con diabetes en el mundo. Esta cifra se basa en reportes proporcionados por 140 países. Los diez países con mayor prevalencia de esta enfermedad en orden de importancia son: India, China, Estados Unidos, Rusia, Japón, Brasil, Indonesia, Pakistán, México y Ucrania. Se estima que en el año 2025 México ocupará el séptimo lugar mundial con 12 millones de enfermos (FMD, 2003). La diabetes representa uno de los principales problemas de salud pública y actualmente es la primera causa de muerte en nuestro país, (Dirección General de Evaluación del Desempeño, 2004). El 10.75% de los mexicanos de 20 a 69 años tienen algún tipo de diabetes mellitus, lo que equivale a una población de más de 5 millones y medio de personas con la enfermedad (FMD, 2003). La diabetes se ha hecho estadísticamente significativa desde la década de los 80 y ha ido incrementando rápidamente.

7.4.1 Tipos de diabetes

De los dos tipos principales de diabetes: Tipo 1 (que depende de insulina y habitualmente se presenta en los jóvenes) y la tipo 2 (que no requiere usualmente de insulina y se presenta en los adultos) la tipo 2 es la más frecuente y se encuentra principalmente en personas con obesidad predominante en el abdomen (obesidad central), atribuida a exceso de alimentación y vida sedentaria. También se relaciona con factores raciales (es más frecuente en los asiáticos y los indoamericanos) y con estrés (FMD, 2003).

7.4.1.1 Diabetes tipo 1

Esta forma de diabetes llamada previamente diabetes insulino-dependiente, diabetes tipo 1, o diabetes juvenil resulta de una destrucción autoinmune de las células β del páncreas, en esta forma de diabetes, la velocidad de destrucción de las células β es totalmente variable, siendo rápida en algunos individuos (principalmente niños) y lenta en otros (principalmente adultos) (The Expert Committee, 2002). Algunos pacientes, particularmente los niños y adolescentes, pueden presentar cetoacidosis como primera manifestación de la enfermedad. Otros desarrollan moderada hiperglicemia en ayuno que puede cambiar a hiperglicemia severa y/o cetoacidosis en presencia de infección o estrés. Otra forma silenciosa, particularmente en adultos, es aquella en la que las células β pueden tener función residual, suficiente para prevenir la cetoacidosis por muchos años. La gran mayoría de individuos que presentan diabetes tipo 1 empiezan a ser dependientes de insulina para sobrevivir y presentan un alto riesgo de desarrollar cetoacidosis. Posterior a este estado de la enfermedad, hay poca o nula secreción de insulina, la cual se pone de manifiesto por bajos o indetectables niveles del péptido C en plasma. La diabetes autoinmune comúnmente ocurre en niños y adolescentes, pero puede ocurrir a cualquier edad (Liberopoulos, *et al.*, 2005).

7.4.1.2 Diabetes tipo 2

Esta forma de diabetes, previamente llamada diabetes no insulino-dependiente, diabetes tipo 2, o diabetes del adulto, es el término usado para individuos quienes presentan resistencia a la insulina y usualmente deficiencia de insulina, aunque a veces es absoluta. Al menos al inicio y casi durante toda su vida, estos individuos no necesitan tratamiento con insulina para sobrevivir. Aunque las etiologías de esta forma de diabetes no son conocidas completamente, la destrucción autoinmune de las células β no ocurre. (Liberopoulos, *et al.*, 2005) La diabetes tipo 2 o diabetes no insulino-dependiente representa más del 90% de los casos y se caracteriza por: 1) resistencia a la acción de la insulina para la apertura de canales de glucosa en tejidos periféricos, especialmente en músculo esquelético y adipocitos, 2) disminución de la acción de la insulina para inhibir la producción de glucosa hepática, y 3) alteración en la secreción de insulina. Inicialmente, el incremento en la secreción de insulina compensa la resistencia a esta hormona, pero cuando

la enfermedad comienza la compensación por las células β se altera (The Expert Committee, 2002).

Muchos pacientes con ésta forma de diabetes son obesos y esta obesidad causa cierto grado de resistencia a la insulina. Los pacientes que no son obesos pueden tener un incremento en porcentaje de grasa distribuida predominantemente en la región abdominal (CNTAPHA, 2008). La cetoacidosis puede ocurrir espontáneamente en este tipo de diabetes, cuando se observa, se asocia usualmente con el estrés o con infecciones. Esta forma de diabetes frecuentemente no es diagnosticada en varios años porque la hiperglicemia se desarrolla gradualmente, en estados tempranos no es severa y el paciente no presenta ninguno de los síntomas clásicos de diabetes. Sin embargo, tales pacientes van incrementando el riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares (Lemon, *et al.*, 2009). El riesgo de desarrollar la diabetes tipo 2 incrementa con la edad, obesidad y pérdida de la actividad física (CNTAPHA, 2008).

7.4.2 Epidemiología

La India encabeza la lista de los diez países del mundo con el mayor número de personas con diabetes diagnosticada, con una cifra actual de 40.9 millones, seguida de China con 39.8 millones. Por detrás están EE.UU., Rusia, Alemania, Japón, Pakistán, Brasil, México y Egipto. La Federación Internacional de Diabetes (IDF) en el 2006 estimó que para el 2007 habría 256 millones de personas con diabetes en el mundo.

La prevalencia (proporción de la población que padece la enfermedad) es variable en distintas comunidades, siendo muy alta en algunos grupos étnicos como en los Polinésicos y en los indígenas Pima de EE. UU., donde el 25% de su población presentan DM tipo 2. México es uno de los países con mayor prevalencia de diabetes tipo 2, se calcula que ocupa el noveno lugar a nivel mundial de número de diabéticos (Islas and Revilla, 2005)

7.4.3 Diagnóstico

Para el diagnóstico definitivo de diabetes mellitus y otras categorías de la regulación de la glucosa, se usa el nivel de glucosa en plasma o suero. En ayunas de 10 a 12 horas, las

glicemias normales se caracterizan por valores <110 mg/dL. La intolerancia a la glucosa se diagnostica cuando el sujeto presenta un valor de glucosa en ayuno < 126 mg/dL y a los 120 minutos post sobrecarga oral de glucosa entre 140 y 199 mg/dL.

En la prueba de tolerancia a la glucosa oral (curva de tolerancia a la glucosa), la medición en plasma se hace dos horas posteriores a la ingesta de 75 g de glucosa en 30 ml de agua; la prueba es positiva con cifras mayores o iguales a 200 mg/dL, además de los síntomas característicos de la diabetes como son: poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso (Greenspan and Gardner, 2005)

7.4.4 Factores de riesgo

Los factores más importantes en la aparición de una diabetes tipo 2 son, además de una posible resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa, el exceso de peso y la falta de ejercicio (Kang *et. al*, 2008). Para la diabetes tipo 1 principalmente influye la herencia genética, o bien, alguna patología que influya en el funcionamiento del páncreas. La actividad física mejora la administración de reservas de azúcares del cuerpo y actúa como reguladora de las glucemias. Las reservas del glucógeno aumentan y se dosifican mejor cuando el cuerpo está en forma, ya que las grasas se queman con más facilidad, reservando mas los hidratos de carbono para esfuerzos intensos o en caso de que la actividad sea muy larga que las reservas aguanten más tiempo (Ferns and Ketji, 2008). Dos factores a destacar son la alteración en la glucosa de ayuno mayor o igual a 110 mg/dL (pero < 126 mg/dL), y la intolerancia a la glucosa de 140 mg/dL (pero 200 mg/dL) medida a las 2 horas de ingerir una solución glucosada (Dorantes and Martínez, 2004).

7.4.5 Complicaciones

Independiente del tipo de diabetes mellitus, un nivel elevado de azúcar en la sangre conduce a las siguientes enfermedades (Gill *et al.*, 2002):

- Daño de los pequeños vasos sanguíneos (microangiopatía),
- Daño de los nervios periféricos (polineuropatía).

- Síndrome del pie diabético (heridas difícilmente curables y la mala irrigación sanguínea de los pies, puede conducir a laceraciones y eventualmente a la amputación de las extremidades inferiores).
- Daño de la retina (retinopatía).
- Dalo renal (nefropatía)
- Hígado graso o hepatitis de hígado graso (adipohepatía)
- Daño de los vasos sanguíneos grandes (macroangiopatía): trastorno que conduce a infartos, apoplejías y trastornos de la circulación sanguínea en las piernas.
- Hiperglucemia es la elevación de nivel de glucosa en sangre por encima de los 110 mg/dL en ayunas o 180 mg/dL en valor postprandial.
- Hipoglucemia es la disminución de nivel de glucosa en sangre por debajo de los 50 mg/dL. Puede ser consecuencia de ejercicio físico no habitual o sobreesfuerzo, sobredosis de insulina, cambio en el lugar habitual de inyección, ingesta insuficiente de hidratos de carbono, diarreas, etc.
- Coma diabético es la consecuencia más grave de la diabetes, pueden presentarse valores de glucosa en la sangre de 1000mg/dL (los valores normales de glucosa en la sangre son de 80 a 120 mg/dL), generando una sobre acidificación de la sangre (acidosis metabólica) o por una dosificación errónea de la insulina.

7.4.6 Insulina

En los islotes pancreáticos se secretan algunas hormonas, las células β que producen la insulina, las células α son productoras de glucagón (hormona hiperglucemiante o de contrarregulación), y células delta secretan somatostatina (hormona que inhibe tanto la secreción de insulina como la de glucagón), mientras que un pequeño número de células pancreáticas (denominadas células F) se encargan de la producción del polipéptido pancreático. La insulina es una hormona hipoglicemiante, se sintetiza a partir de una larga cadena precursora, o preproinsulina, la cual se fracciona para dar lugar a la molécula de proinsulina, que tiene 86 aminoácidos. Esta última a su vez, es procesada por enzimas de conversión, generando insulina y una pequeña fracción peptídica (péptido C). La insulina es un polipéptido constituido por dos cadenas de aminoácidos denominados A y B, que

están unidas por dos puentes de disulfuro conteniendo en total 51 aminoácidos (Dorantes and Martínez, 2004; Figueroa Valverde, *et al.*, 2009).

La insulina actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las grasas. Facilita el transporte de glucosa a través de la membrana celular, promueven su transformación en glucosa 6-fosfato, favorece la síntesis del glucógeno hepático y muscular; y disminuye la gluconeogénesis (Dorantes and Martínez, 2004; Figueroa *et al.*, 2009).

En los años recientes se han acumulado evidencias de que en la diabetes tipo 2 el defecto principal es la deficiente secreción de insulina, aunque usualmente no es tan severa como en la tipo 1. Se considera que la disminución de la primera fase de secreción de insulina es una condición *sine qua non* para la aparición de la enfermedad. Algunas evidencias indican que, como en la fase 1, hay deficiencia de insulina progresiva desde antes de la aparición de la enfermedad, y que al alcanzar un nivel crítico, se instala la alteración bioquímica y en seguida el cuadro clínico. El defecto primario que conduce a la deficiencia de insulina no es conocido. Solamente se han identificado factores hasta ahora considerados coadyuvantes en el proceso: la disminución de la masa de células beta del páncreas, la disminución de los canales de potasio sensibles a ATP, el daño oxidativo, el estrés del retículo endoplásmico, la formación de depósitos de amiloide en tejido insular, inflamación (elevación de reactantes de fase aguda), el propio exceso de glucosa (glucotoxicosis) y el exceso de lípidos (lipotoxicosis) que dañan el funcionamiento de la célula beta del páncreas (Amaya-Chávez *et. al.*, 2007).

7.4.7 Tratamiento para la diabetes

La diabetes mellitus es un proceso crónico-degenerativo que se puede controlar basándose principalmente en estos cuatro factores: la educación e información concerniente a la enfermedad, ejercicio físico, dieta y fármacos. Además, es recomendable la vigilancia constante de los niveles de glucemia del paciente para evitar complicaciones de salud (Reaven *et. al.*, 1988)

7.4.7.1 Terapia farmacológica

El tratamiento farmacológico para la diabetes tiene como objetivo principal disminuir la hiperglicemia, aunque el mecanismo a través del cual ejerce su acción varía dependiendo de la naturaleza química.

Estos se clasifican en insulina e hipoglucemiantes orales, entre estos se encuentran (Alpizar, 2001):

- Sulfonilureas que estimulan al páncreas a producir más insulina,
- Biguanidinas que disminuyen la cantidad de azúcar producida en el hígado,
- Inhibidores de alfa-glucosidasas que retardan la absorción de glucosa del intestino,
- Tiazolidinedionas que producen mayor sensibilidad a la insulina.

7.4.7.2 Tratamiento con insulina

El tratamiento con insulina es obligado para los pacientes con diabetes tipo 1 y se administra a pacientes con diabetes tipo 2 cuando ni la dieta ni los hipoglucemiantes orales son capaces de lograr el control del nivel de glucosa. La insulina es asimismo el tratamiento de elección para la diabética gestante, ya que la insulina no atraviesa la barrera placentaria. La insulina es degradada por vía oral, lo que obliga a que su uso se haga por inyección. Por lo general se usa por vía subcutánea o intramuscular, siendo la subcutánea la vía más usada (The Expert Committee, 2002). La vida media de la insulina en plasma es corta, aunque puede extenderse por formación de complejos con protamina. Existen diferentes preparados comerciales cuya acción va desde una respuesta rápida hasta una respuesta ultralenta y que permiten realizar las combinaciones de modo que se ajusten a las características del paciente. Estos preparados se diferencian en las sustancias añadidas con objeto de modificar sus características farmacocinéticas (inicio de la acción, tiempo de vida media y máxima concentración plasmática) (Liberopoulos, *et al.*, 2005).

7.4.8 Metabolismo de la glucosa

A nivel hepático la glucosa no requiere de transportador, pero la menor actividad de la glucocinasa (esencial para la fosforilación) y de la glucógeno sintetasa, limitan la síntesis de glucógeno. A nivel muscular, la menor actividad de la hexocinasa y del glucógeno sintetasa, tienen igual efecto sobre la limitada cantidad de glucosa transportada. Se presenta menor captación de la glucosa por el tejido muscular y adiposo debido al decrecimiento de la actividad del transportador de la glucosa (Glut 4) en los tejidos dependientes, reduciendo su síntesis o interfiriendo con su translocación desde la citosol a la membrana. Se manifiesta por un menor número de moléculas en la membrana y por una menor captación y transporte de glucosa (Greenspay and Gardner, 2005)

7.4.9 Bioensayo de letalidad de *Artemia salina*

El Bioensayo de Letalidad con nauplios de *Artemia salina*, es un ensayo de mucha utilidad en la búsqueda de nuevos compuestos activos. Se considera como una prueba general de toxicidad y un complemento de valoración farmacológica de extractos de plantas (Meyer *et al.*, 1982; Molina Salinas *et al.*, 2006). Tiene la ventaja de ser un bioensayo sencillo, rápido y altamente sensible. Consiste en la determinación de la DL₅₀ (Dosis Letal Media) de los extractos de las plantas, aquellos que presentan una DL₅₀<1000 mg/L, es muy probable que contengan uno o varios compuestos activos. Permite la evaluación rápida y conveniente de extractos crudos, fracciones y compuestos puros. (McLaughlin *et al.*, 1998).

8. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en los Laboratorios de Fitoquímica, Química Analítica y Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango y en el Laboratorio de Fitoquímica y el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila.

8.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Hojas de *C. chayamansa* (Chaya).

Hojas de *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina).

Hojas de *J. dioica* (Sangre Drago)

Ratas Wistar

Nauplios de *Artemia salina*

Las hojas de *C. chayamansa* (Chaya), *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina), *J. dioica* (Sangre Drago) fueron recolectadas en la Región Lagunera de Durango (Gómez Palacio y Lerdo Durango), seleccionándose parte del material que se depositó en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, para su identificación, archivo y obtención del número de voucher.

8.2 PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Las hojas se secaron a temperatura ambiente en un periodo de 10 días, en un área cerrada y ventilada, y al secarse fueron molidas con una licuadora casera hasta obtener un polvo fino (Navarro G.V.M. *et al.*, 2006).

8.3 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.

La obtención de extractos y condiciones de almacenamiento se determinaron basándose en pruebas preliminares realizadas. Se mezclaron 60 g de muestra seca en 300 ml de agua destilada estéril a 90° C durante 1 h en constante agitación posteriormente se filtrará en un Matraz erlenmeyer limpio y estéril para eliminar los residuos de la muestra (hojas de

Chaya, Hierba de la Golondrina y de Sangre de grado), y se almacenaron en refrigeración a 5 °C hasta su análisis o aplicación.

8.4 BIOENSAYO DE LETALIDAD CON NAUPLIOS DE *Artemia salina*

Para la propagación de huevecillos de *A. salina*, se colocaron en agua de mar artificial, que se preparó de la manera siguiente: se pesaron 40 g de sal de mar (Instant Ocean, Aquarium System), 0.006 g de levadura de cerveza (Mead Johnson) se aforaron en un litro de agua bidestilada, se ajustó el pH a 7.8. Se pesaron 0.1 g de huevecillos de *A. salina* (Brine Shrimp Eggs San Francisco Bay Brand INC) y se depositaron en un recipiente de plástico dividido por una pared intermedia con un espacio en la parte baja de 2 mm, con 100 ml de agua de mar artificial, se mantuvieron en condiciones de oscuridad y oxigenación. Uno de los compartimentos fue iluminado con una lámpara de 20 watts ya que al eclosionar los nauplios son atraídos a la luz. A las 24 h los nauplios se cambiaron con la ayuda de una micropipeta a otro recipiente y fueron mantenidos en condiciones de oxigenación y temperatura de laboratorio por 24 h o más. En una microplaca de 96 pozos se adicionaron 100 µL de la suspensión de nauplios/pozo (aproximadamente 10 a 15 nauplios) más 100 µL de las diluciones de los extractos a probar (las diluciones de los extractos se hicieron en agua de mar), las *concentraciones probadas fueron en un rango de 10 a 1000 µg/mL. Como control positivo se utilizaron dicromato de potasio 400 ppm y agua de mar como control negativo. A las 24 h de aplicados los extractos y con la ayuda de un microscopio estereoscópico, se realizó el conteo de nauplios vivos y muertos por dosis. Utilizando el método Probit se determina la DL₅₀ (Meyer et al., 1982; Solís et al., 1993).*

Se considera un extracto no tóxico cuando la DL₅₀ es mayor de 1000µg/mL, con una DL₅₀ menor de 1000 y mayor de 200 µg/mL es un extracto activo, menor de 200 µg/mL es un extracto tóxico y una DL₅₀ menor de 5 µg/mL es un extracto altamente tóxico, promisorio como antineoplásico (Lagarto P.A. et al., 2001; Martínez-Hormaza et al., 2006).

8.5 CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE FENÓLICOS TOTALES

El contenido fenólico total se midió usando una modificación del método Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965) publicado por Esparza Rivera *et al.* (2006). Se mezclaron 30 μl de muestra con 270 μl de agua destilada en un tubo de ensaye, y a esta solución se le agregó 1.5 ml de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, EU) diluido (1:15), agitando en vórtex durante 10 segundos. Después de 5 minutos se añadió 1.2 ml de solución de carbonato de sodio (7.5% p/v) agitándose durante 10 segundos. La solución se colocó a baño maría a 45°C por 15 minutos, y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente. La absorbancia de la solución fue leída a 765 nm en un espectrofotómetro HACH UDR 4000. El contenido fenólico se calculó mediante una curva patrón usando ácido gálico (Sigma, St. Louis, Missouri, EU) como estándar, y los resultados se reportaron en mg de ácido gálico equivalente por g de muestra base seca (mg equiv AG·g⁻¹ BS). Los análisis se realizaron por triplicado.

8.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante fue determinada por los métodos de ABTS⁺ y DPPH⁺, los resultados se reportaron en mM equivalente de Trolox por g de muestra BS.

8.6.1 Capacidad antioxidante equivalente en Trolox por el método DPPH⁺ (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)

La capacidad antioxidante se evaluó de acuerdo al método in vitro DPPH⁺ usando una modificación del método publicado por Brand-Williams (1995). Se preparó una solución de DPPH⁺ (Aldrich, St. Louis, MO, EU) en metanol, ajustando la absorbancia de la solución a $1,100 \pm 0,010$ a una longitud de onda de 515 nm. Para la determinación de capacidad antioxidante se mezclaron 50 μl de muestra y 950 μl de solución DPPH⁺, y después de 3 min de reacción se leyó la absorbancia de la mezcla a 515 nm. Se preparó una curva estándar con Trolox (Aldrich, St. Louis, MO, EU), y los resultados se reportaron como capacidad antioxidante equivalente en mM equivalente en Trolox por g base seca (mM equiv Trolox/gm BS). Los análisis se realizaron por triplicado.

8.6.2 Capacidad antioxidante equivalente en Trolox por el método ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)).

La capacidad antioxidante equivalente en Trolox se evaluó de acuerdo al método in vitro ABTS^{•+} publicado por Esparza Rivera *et al.* (2006). Se preparó una solución de ABTS^{•+} con 40 mg de ABTS (Aldrich, St. Louis, Missouri, EU) y 1.5 g de dióxido de manganeso (Fermont, Nuevo León, México) en 15 ml de agua destilada. La mezcla fue agitada vigorosamente y se dejó reposar cubierta durante 20 minutos. Luego, la solución se filtró en papel Whatman 40 (GE Healthcare UK Limited, Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido), y la absorbancia se ajustó a 0.700 ± 0.010 a una longitud de onda de 734 nm utilizando solución buffer de fosfato 5 mM. Para la determinación de capacidad antioxidante se mezclaron 100 μ l de muestra y 1 ml de solución ABTS^{•+}, y después de 60 y 90 segundos de reacción se leyó la absorbancia de la muestra a 734 nm. Se preparó una curva estándar con Trolox (Aldrich, St. Louis, MO, EU), y los resultados se reportaron como capacidad antioxidante equivalente en mM equivalente en Trolox por g base fresca (mM equiv Trolox·gm⁻¹ BF). Los análisis se realizaron por triplicado.

8.7 INDUCCIÓN DE DIABETES EN RATAS WISTAR

Para este estudio se utilizaron 30 ratas Wistar macho, las cuales se mantuvieron en el bioterio de la unidad de fitoquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila, bajo condiciones controladas de temperatura (25 °C), humedad (60%) y ciclos de luz/oscuridad (12 h).

Se emplearon 5 ratas Wistar macho para cada extracto (Chaya, Hierba de la Golondrina y Sangre de drago) con peso de 250 a 300 g, alimentadas *ad libitum*. Posteriormente se les administró una dosis única de 40 mg/Kg de peso corporal (PC) de estreptozotocina (SZT) por vía intraperitoneal, y se verificó que dos horas después de la inyección se presentara una hiperglicemia en sangre, y seis horas después de la inducción se presentó una hipoglicemia en sangre. Finalmente se desarrolló la hiperglicemia en sangre debido a las anormalidades que se generan en la función de las células β originando diabetes tipo 2 caracterizada por concentración de glucosa de 180 mg/dL y ligero daño a las células pancreáticas como lo describe Amaya-Chávez *et. al.*, 2007.

8.8 DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO DE EVALUACIÓN DE EFECTO HIPOGLICÉMICO DE EXTRACTOS DE CHAYA, HIERBA DE LA GOLONDRINA Y SANGRE DE DRAGO EN RATAS WISTAR

Se seleccionaron 30 ratas macho Wistar diabéticas y se distribuyeron al azar, 15 ratas macho Wistar fueron distribuidas en tres grupos de cinco ratas para la aplicación del extracto correspondiente (Chaya, Hierba de la Golondrina y Sangre de drago) como tratamiento, las quince ratas restantes fueron distribuidos al azar en tres grupos con cinco ratas Wistar para los grupo control, donde uno de los grupos fue tratado con glibenclamida y los otros dos grupos restantes no se les administro ningún tipo de tratamiento, los extractos y la glibenclamida fueron administrados en condiciones de ayuno (8 a 12 horas) por medio de una sonda (vía intragástrica) a una dosis de 5 g de hoja/ kg de peso corporal (PC), donde los dos grupos control sin tratamiento solo recibieron agua.

Todas las ratas recibieron su tratamiento por 4 semanas. Cada semana se registró el control de peso corporal, consumo de alimento y líquido, así como los niveles sanguíneos de glucosa. Al final de las 7 semanas todas las ratas fueron sacrificadas, la sangre fue tomada por punción cardiaca, depositadas en tubos para la separación del suero y se congelaron a -20°C (en varias alícuotas) hasta el análisis de glucosa. Se utilizó el suero obtenido de cada muestra sanguínea para determinar concentración de glucosa con el método Glucosa Oxidasa/peroxidasa (kit de Accu Trak).

8.9 DETERMINACIÓN DE GLUCOSA SÉRICA

La determinación de Glucosa Sanguínea se efectuó por el método Glucosa Oxidasa/peroxidasa, con una modificación del método citado por Figueroa Valverde *et. al*, (2009). La glucosa se determinó después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrogeno formado reacciona, catalizado por la peroxidasa, con fenol y 4-aminofenazona para formar un indicador de quinoneimina rojo violeta. La concentración de glucosa se obtiene con la fórmula 1.

$$\text{Formula 1} \quad \text{Concentración de glucosa (mg/dl)} = (\text{A}_{\text{muestra}}/\text{A}_{\text{estandar}}) \times 100$$

La absorbancia de muestras y estándar se lee en espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm. Se reporta el resultado en mg de glucosa por dl.

8.10 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (HPLC)

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos presentes en los extractos se realizó mediante métodos cromatográficos (HPLC) y espectrofotométrico

8.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos de las pruebas analíticas fueron analizados usando un ANOVA factorial con un nivel de significancia de 0.05. En caso de requerirse se usará la prueba de comparación múltiple de Tukey para comparación de medias ($P < 0.05$)

9. RESULTADOS

9.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

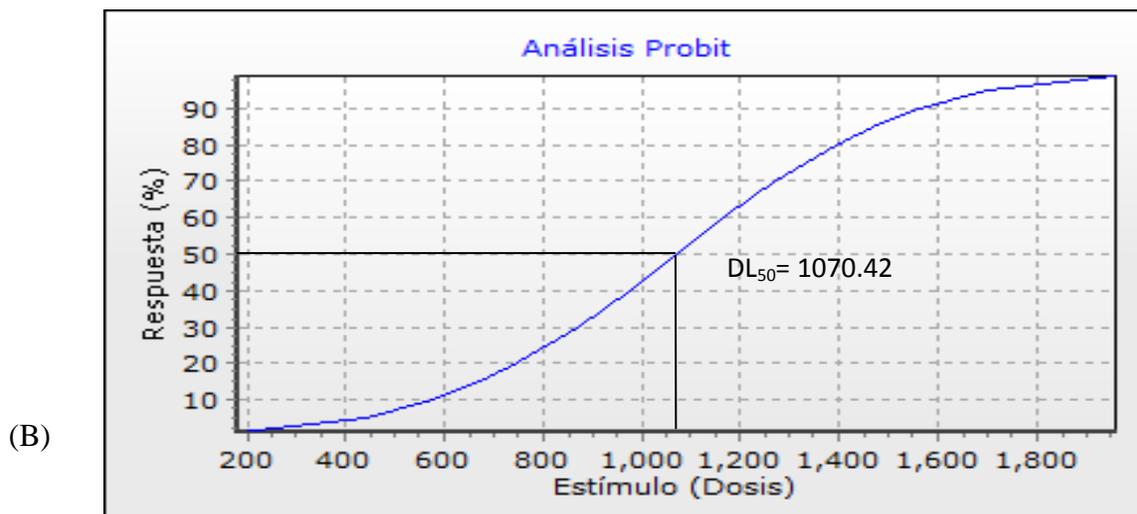
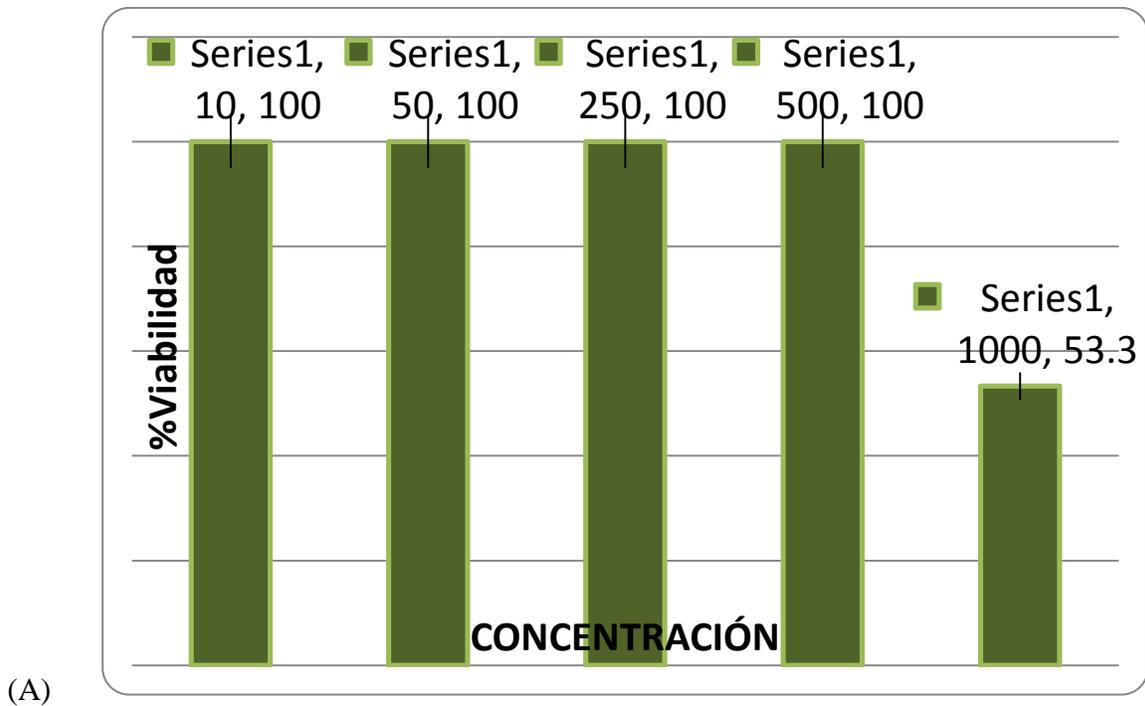
Las plantas fueron colectadas en la Región Lagunera de Durango (Gómez Palacio y Lerdo Durango).

9.2 IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL DE ESTUDIO

Las plantas fueron identificadas y se les asignaron los voucher siguientes: 22388 para las hojas de *C. chayamansa* (Chaya), 07807 para *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina) y 34077 para *J. dioica* (Sangre Drago).

9.3 BIOENSAYO DE TOXICIDAD SOBRE NAUPLIOS DE *Artemia salina*

Los resultados del Bioensayo de toxicidad mostraron que los extractos acuosos o tés son seguros para ser consumidos, ya que las DL_{50} para extractos de hoja de chaya (Figura 1 A y B) fueron altas, resultó una DL_{50} de 1070.42 $\mu\text{g/ml}$, para Sangre de grado la DL_{50} fue de 1833.09 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 3 A y B), solo la hierba de la golondrina (Figura 2 A y B) presento una DL_{50} por debajo de los 1000 $\mu\text{g/ml}$ siendo de 726.56 $\mu\text{g/ml}$, la cual según Lagarto *et al.* (2001) pudiera ser considerada como tóxica.



Figuras 1 A y B. Resultados de la concentración de toxicidad (DL₅₀) de extracto acuoso de *C. chayamansa* (Chaya)

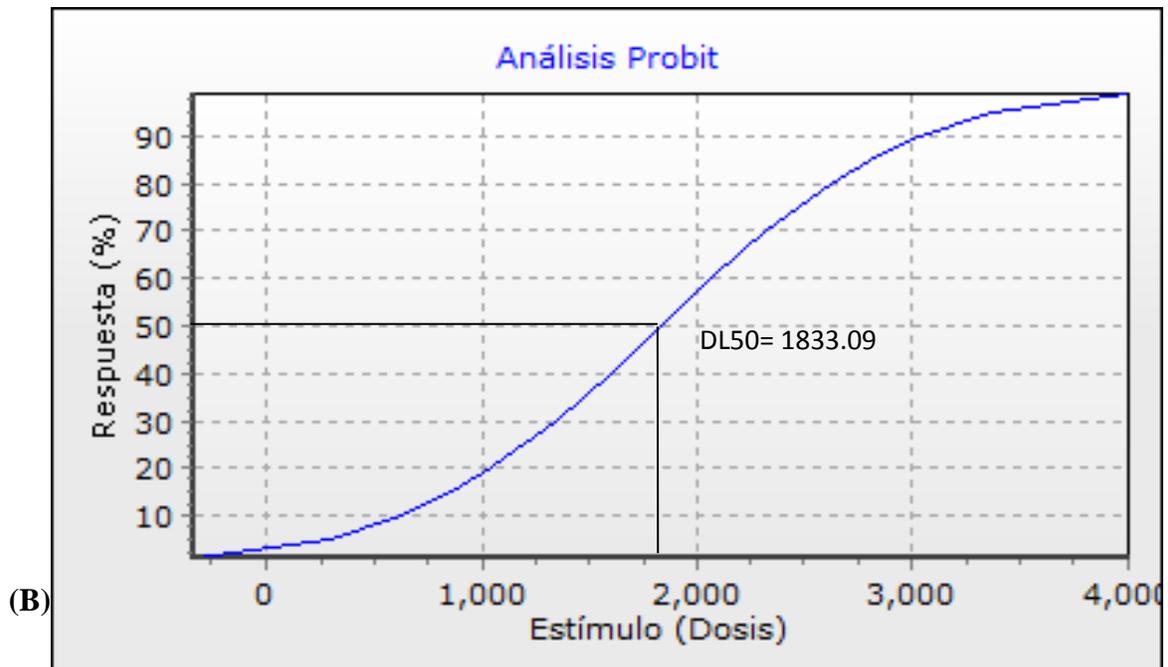
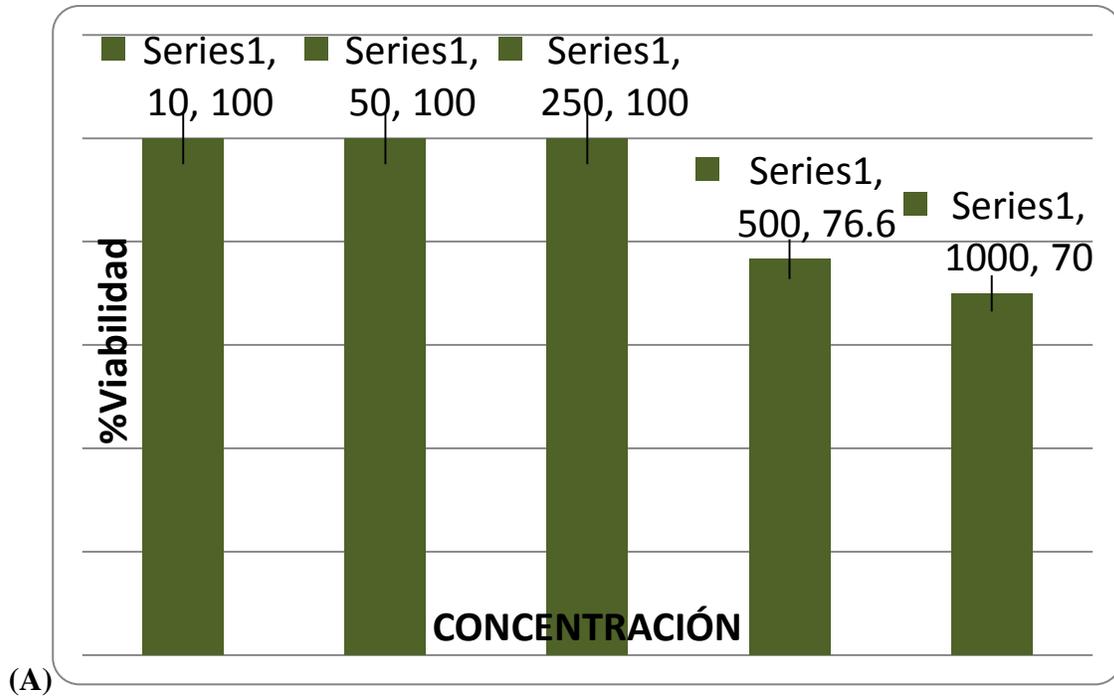


Figura 2 A y B. Resultados de la concentración de toxicidad (DL_{50}) de extracto acuoso de *J. dioica* (Sangre Drago)

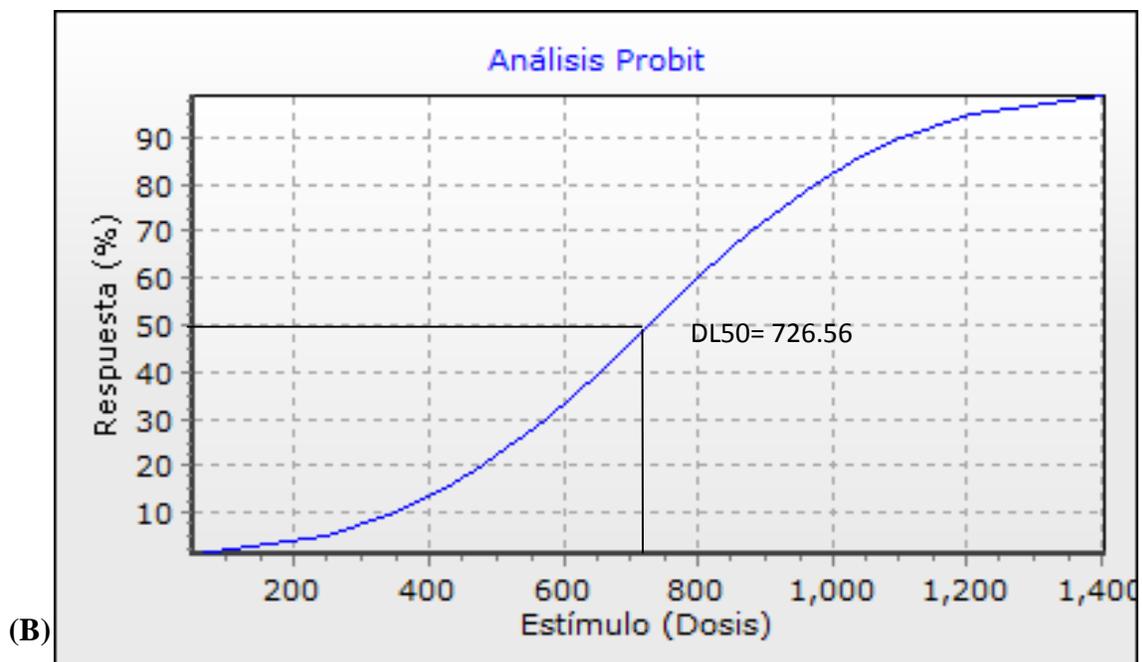
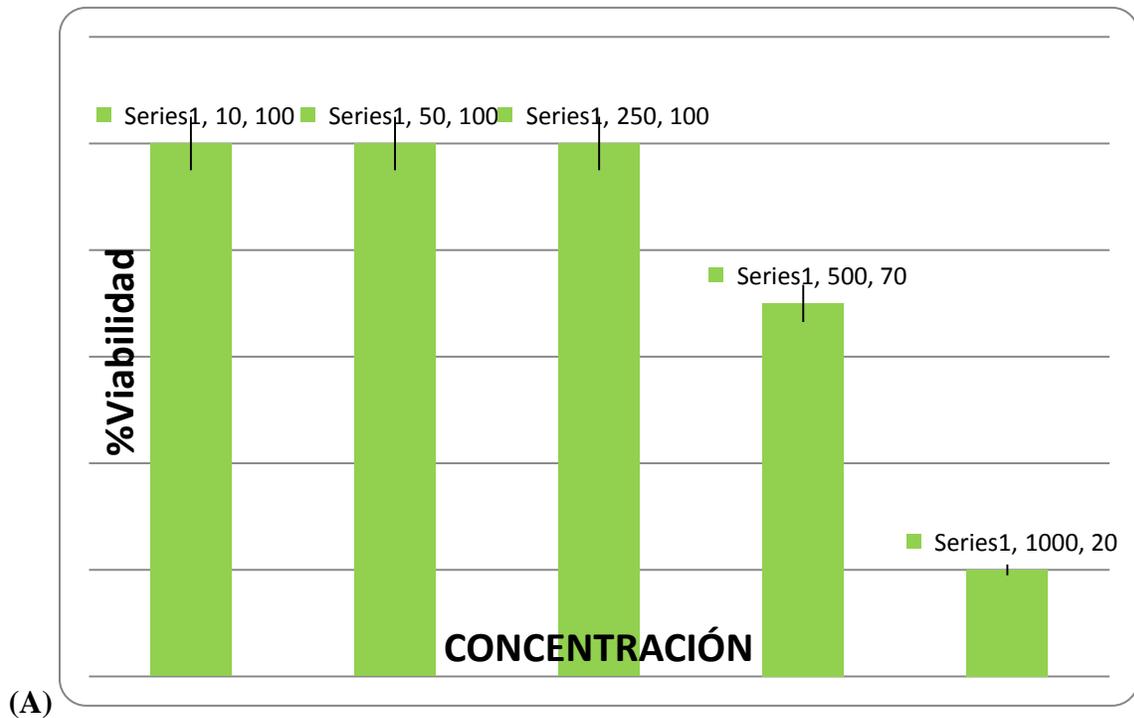


Figura 3 A y B. Resultados de la concentración de toxicidad (DL_{50}) de extracto acuoso de *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina)

9.4 CUANTIFICACIÓN DE FENOLICOS TOTALES

En la tabla 1 se aprecia de manera cuantitativa la presencia de compuestos fenólicos y antioxidantes en los extractos acuosos de chaya, hierba de la golondrina y sangre de drago en donde se encontró una mayor concentración de estos compuestos en la hierba de la golondrina,

En la tabla 2 muestra que la sangre de grado presenta mayor cantidad de flavonoides y antioxidantes en comparación a los otros dos extractos, sin embargo en este cuadro se puede apreciar que existen compuestos similares en los tres extractos los cuales posiblemente tienen propiedades hipoglucemiantes

Extractos (acuoso)	Fenólicos mg equivalente de ácido gálico/g base seca	(ABTS) mMol equivalente de Trolox/g base seca	(DPPH) mMol equivalente de Trolox/g base seca
Chaya (<i>Cnidoscolus chayamansa</i>)	6.34	5.9	1.1
Hierba de la golondrina (<i>Euphorbia prostrata</i>)	10.67	12.7	9.53
Sangre de drago (<i>Jatropha dioica</i>)	1.83	2.5	1.03

Tabla 1. Resultados de la cuantificación de la actividad antioxidante y contenido fenólico de infusiones de *C. chayamansa*, *E. prostrata* y *J. dioica*.

Tabla 2. Presencia de compuestos fenolicos y flavonoides en infusiones de *J. dioica*, *C. chayamansa* y *E. prostrata*

Compuestos fenolicos y Flavonoides	Extractos Acuoso		
	<i>C. chayamansa</i>	<i>E. prostrata</i>	<i>J. dioica</i>
Ácido Clorogénico	-	+	+
Ácido Gálico	-	-	+
Ácido Sirínigico	-	+	+
Catequina	+	+	+
Epi Catequina	+	+	+
Rutina	-	+	+
Ácido <i>p</i> -Hidroxibenzoico	+	+	+

(+) Presencia de compuestos fenolicos y flavonoides, (-) Ausencia de compuestos fenolicos y flavonoides

9.5 Actividad hipoglucemiante de extractos acuoso

Los resultados del experimento con el modelo biológico *in vitro* (ratas wistar) muestran que en las ratas no diabéticas, sus niveles de glucosa no tuvieron variaciones, en las ratas diabéticas sin tratamiento sus niveles de glucosa se elevaron durante el periodo de experimentación y en las ratas diabéticas con tratamiento a base de glibenclamida o infusiones mostraron una disminución en sus niveles elevados de glucosa tal como se muestra en la figura 4, donde se puede observar que la infusión a base de chaya resulta mejor para disminuir los niveles de glucosa en comparación con el resto de los tratamientos, sin embargo se puede observar que los grupos tratados con las infusiones tuvieron una mejor respuesta hipoglucemiante que el grupo tratado con glibenclamida.

En la figura 5 se puede observar que el grupo control no diabético su peso fue en aumento durante el periodo de experimentación a diferencia del grupo diabético sin tratamiento y el grupo tratado con infusión de sangre de grado en los cual se observa una gran disminución de su peso en comparación a los demás grupos. Lo grupos tratados con glibenclamida o infusiones de chaya y hierba de la golondrina mostraron un mejor control en sus pesos, sin embargo se puede observar que los grupos tratados a base de infusiones mostraron un mejor peso que el grupo tratado con glibenclamida.

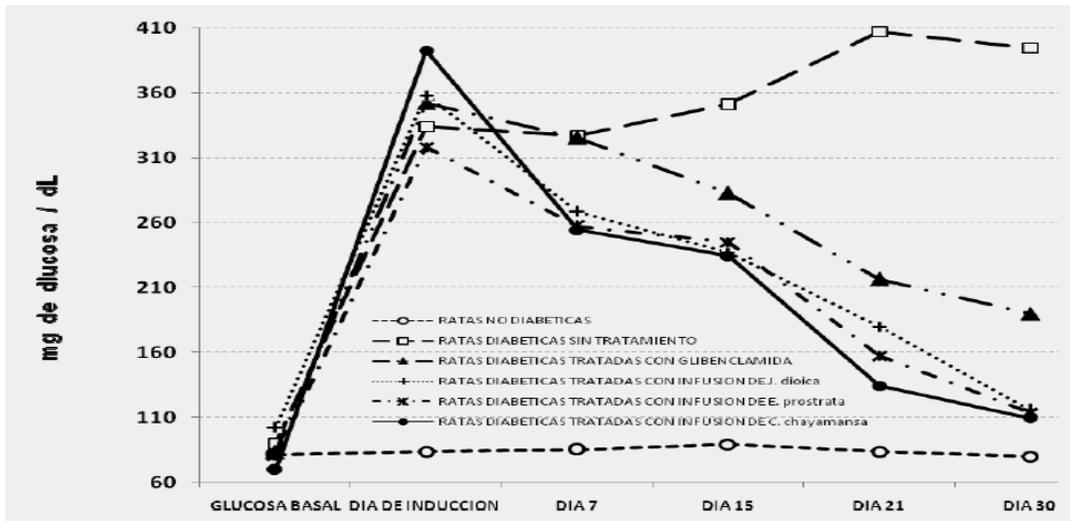


FIGURA 4. Resultados de la cuantificación de glucosa en sangre de ratas diabéticas tratadas con infusiones de *J. dioica*, *C. chayamansa* y *E. prostrata*; con glibenclamida, y no tratadas.

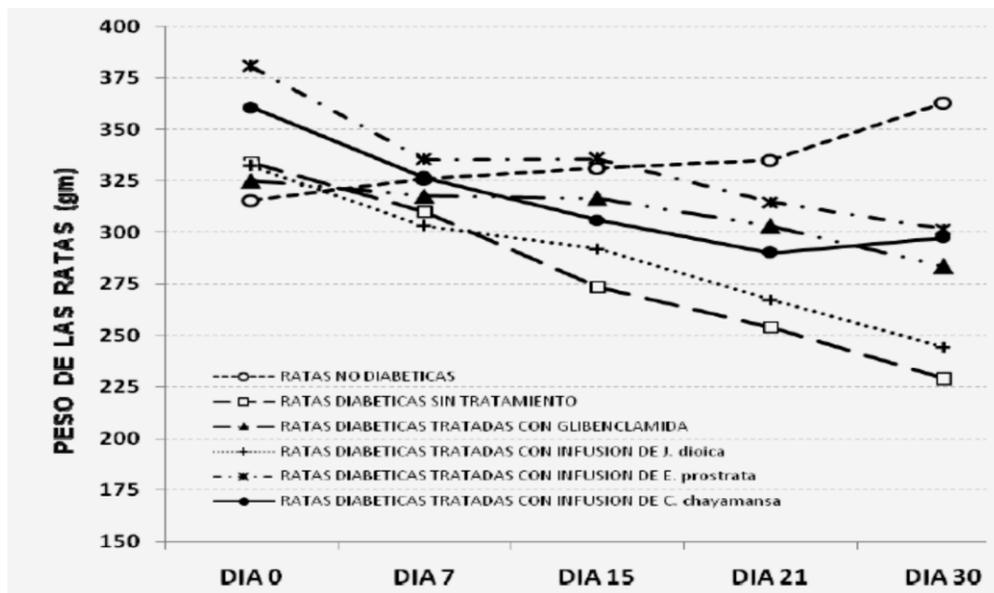


FIGURA 5. Peso de ratas diabéticas tratadas con infusiones de *J. dioica*, *C. chayamansa* y *E. prostrata*; con glibenclamida, y no tratadas.

9.6 DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS

En las Figuras 6, 7 y 8 se muestra la posible presencia de diferentes compuestos antioxidantes y flavonoides en extractos acuosos de chaya, hierba de la golondrina y sangre de drago con propiedades hipoglucemiantes.

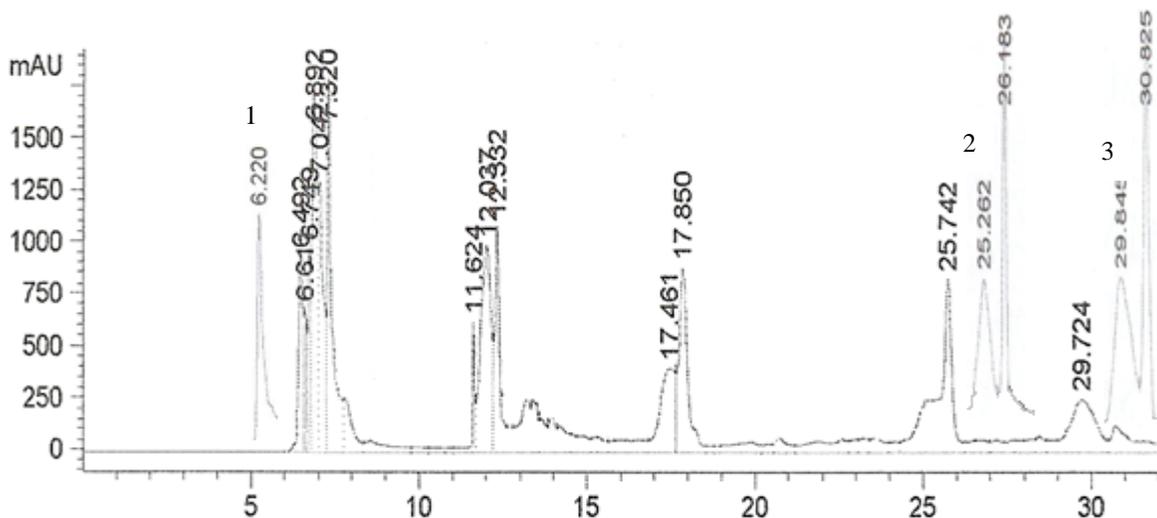


Figura 6. Resultados de la presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en *C. chayamansa* (Chaya) (1.- ácido p-hidroxibenzoico, 2.- catequina, 3. epicatequina.)

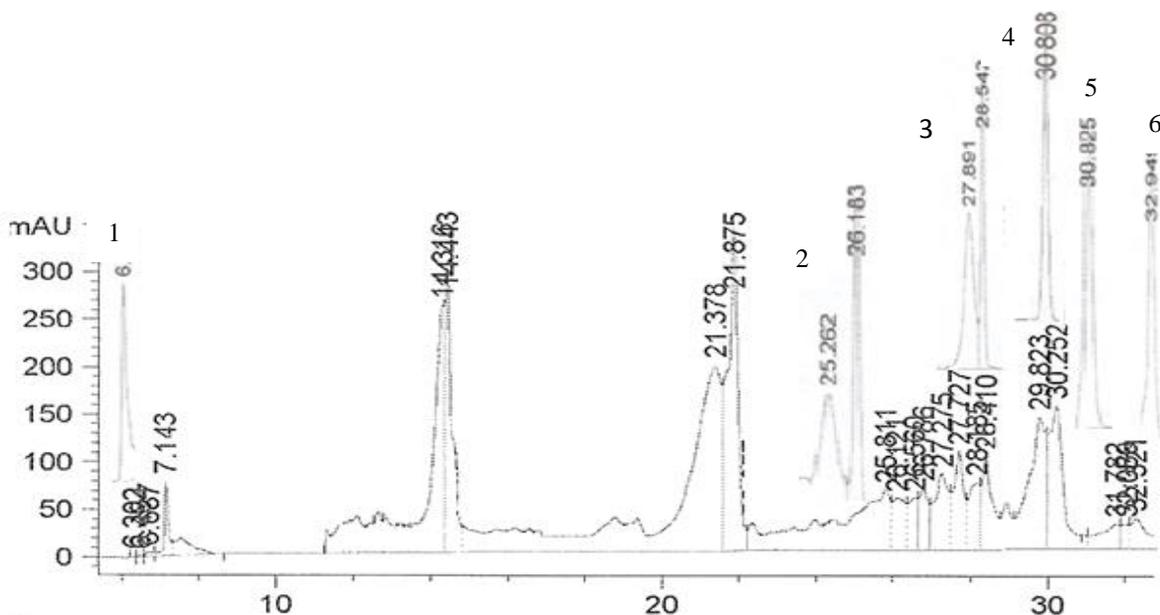


Figura 7. Resultados de la presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en *E. prostrata* (Hierba de la Golondrina) (1.- ácido p-hidroxibenzoico, 2.- catequina, 3.- ácido clorogénico, 4.- ácido siríngico, 5.- epicatequina, 6.- rutina)

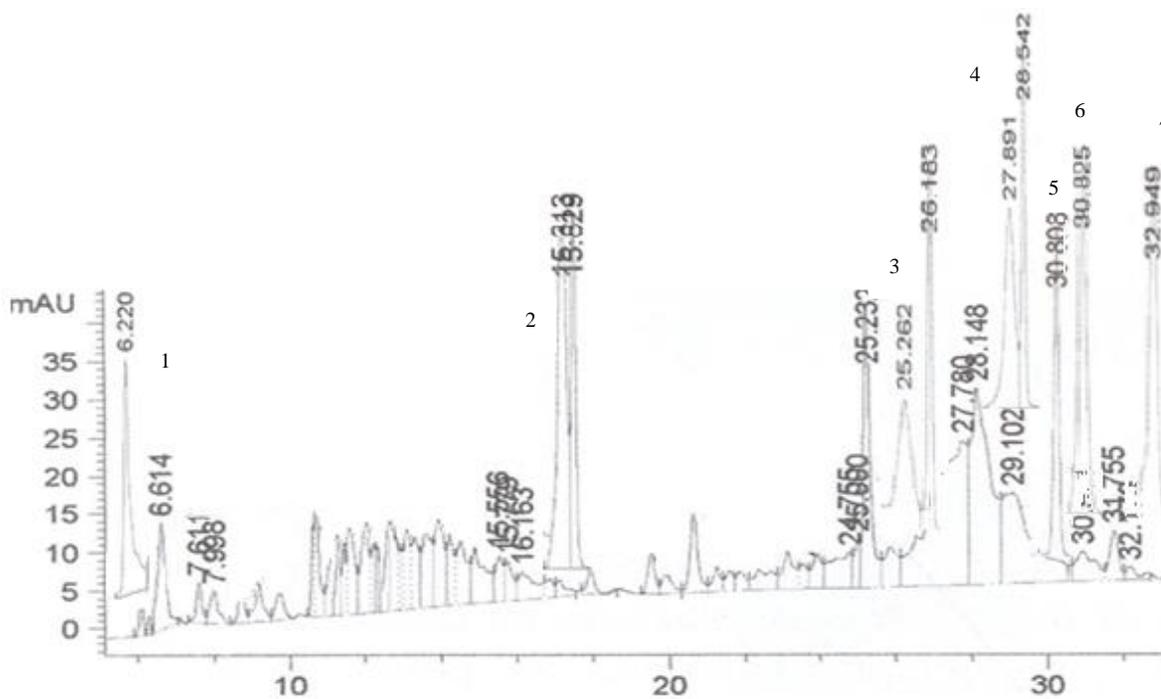


Figura 8. Resultados de la presencia de compuestos antioxidantes y flavonoides en *J. dioica* (Sangre Drago) (1.- ácido p-hidroxibenzoico, 2.- ácido gálico, 3.- catequina, 4.- ácido clorogénico, 5.- ácido sirínico, 6.- epicatequina, 7.- rutina)

DISCUSIONES

Los resultados de este trabajo señalan que el consumo de los téis evaluados redujo los niveles de glucosa de las ratas diabéticas, en forma similar a la aplicación de glibenclamida (5mg/kg). Estos resultados coinciden con los publicados por García-Cervera *et al.*, (2012), y Figueroa-Valverde *et al.* (2009), que reportaron una disminución de los niveles elevados de glucosa en sangre debido a la aplicación de extractos etanólicos de *Jatropha gaudieria*, *Ruta graveolens* L., *C. chayamansa* McVaugh y *Citrus aurantium* L.; Asimismo, fueron detectados los siguientes compuestos fenólicos y flavonoides en los extractos evaluados: rutina catequina, epicatequina, ácido clorogénico, siringico y gálico, p-hidroxibenzoico, capsaicina. Lima *et al.* (2009) menciona la posible presencia de catequina y epicatequina en infusión de *Camellia sinensis* L la cual tiene efecto protector contra diversos tipos de cáncer y problemas cardiovasculares. Por otra parte Seron y Furlan (2010) determinaron que la *Camellia sinensis* tiene un posible efecto hipoglucemiante debido a la presencia de catequina. Resultados obtenidos por Fuentes *et al.* (2013) demuestran que el uso de rutina en ratas diabéticas disminuye los niveles de glucosa en comparación con las ratas control, además los resultados reportados por Fernández *et al.* (2010) y Kamalakkannan y Prince (2006a) al utilizar ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina en las cuales también obtuvieron una disminución de los niveles de glucosa en las ratas diabéticas tratadas con rutina en comparación con las ratas control.

El peso de las ratas diabéticas tratadas y no tratadas tuvo cambios durante el experimento. Los resultados son similares a los reportados por Figueroa-Valverde *et al.* (2009), quienes reportaron una disminución en el peso de las ratas diabéticas tratadas con *Ruta graveolens* L., *C. chayamansa* McVaugh y *Citrus aurantium* L. Sin embargo García-Cervera *et al.* (2012), reportaron incrementos de peso en ratas diabéticas por lo cual ellos sospechan que posiblemente el incremento en el peso de las ratas al finaliza el tratamiento se debe a la concentración de los extractos etanólicos a la cual se manejaron la dosis para el experimento dando como resultado la liberación de algunas sustancias en el organismo el cual produce un aumento de peso mucho mayor en las concentraciones más elevadas que en comparación con los controles.

El contenido fenólico obtenido en el presente estudio fue de 6.34 mg equiv. de ác. gálico/ml de infusión de hojas de chaya, 10.67 mg equiv. de ác. gálico/ml en la infusión de

hierba de la golondrina, y 1.83 mg equiv de ácido gálico/ml en la infusión de tallo de sangre de drago. Estos resultados fueron menores a los obtenidos por Gutiérrez-Zavala, *et al.* (2007) y Loarca-Piña *et al.* (2010), quienes reportaron un contenido fenólico de 71.3 ± 1.7 mg equiv. ác. gálico/gm BS en extractos hexánicos y acetónicos de chaya. Con respecto a la evaluación de la capacidad antioxidante de las infusiones evaluadas, se obtuvo un valor de 5.9 mM equiv. de Trolox/ml de té de hoja de chaya, 12.7 mM equiv. de Trolox/ml en extractos de hoja de chaya, y 2.5 mM equiv. de Trolox/ml en la infusión de tallo de sangre de drago. Estos resultados difieren de los reportados por Gutiérrez-Zavala *et al.* (2007), Loarca-Piña *et al.* (2010) y (Mercado-Mercado, *et al.*, 2013) quienes obtuvieron una capacidad antioxidante en extractos hexánicos y acetónicos de chaya de 14.50 mM equiv. de Trolox/gr BS.

La evaluación de toxicidad mostro que los extractos o tés son seguros para ser consumidos ya que las dosis letales media, estuvieron por arriba de los $1000\mu\text{g/L}$ como los menciona Lagarto *et al.* (2001) solo la infusión de la hierba de la golondrina mostro una ligera toxicidad.

CONCLUSIONES

Los extractos de las plantas probadas, muestran un efecto hipoglucemiante mayor que la glibenclamida.

Los resultados de los métodos de Folin-Ciocalteu, ABTS y DPPH, muestran que el extracto de la hierba de la golondrina contiene la mayor concentración de fenólicos totales y/o de compuestos.

Los resultados de los análisis por HPLC muestran que la sangre de grado contiene mayor presencia de flavonoides y de compuestos antioxidantes, pero esto no indica que sea la más eficaz contra la diabetes.

Los extractos a base de chaya y hierba de la golondrina mostraron una mayor disminución de los niveles de glucosa, lo cual nos indica que posiblemente los compuestos antioxidantes y flavonoides presentes en los tres extractos (catequina, epi catequina y ácido *p*-hidroxibenzoico) son los causantes del efecto hipoglucemiante.

BIBLIOGRAFÍA

Abel, C. y K. Busia. 2005. "An exploratory ethnobotanical study of the practice of herbal medicine by the Akan Peoples of Ghana." Alternative Medicine 10(2): 112-121.

Aguilar CA, Zolla C. 1982. Plantas tóxicas de México. Publicaciones del Instituto Mexicano del Seguro Social. 335 – 339

Aguilera, A. F., Augur, C., Prado, L. A., Aguilar, C. N. y Favela, E. 2008. Extraction and analysis of ellagic acid from novel complex sources. Chemical Papers. 62: 4, 440-444.

Alarcon, A. F.J., Roman, R. R., Perez, G. S., Aguilar, C. A., Contreras, W. C., Flores, S. J. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. J. Ethnopharmacol. 61:101-110.

Alpizar Salazar Melchor. 2001. Guía para el manejo integral del paciente diabético. Editorial Manual Moderno, Pag. 185-191.

Amaya-Chávez, A. Dolores, E.L, Álvarez, P.S, Ferreira, G. R, Gómez-Oliván, L.M, Galar, M. M. 2007. Evaluación de un modelo de diabetes Tipo 2 para estudiar actividad hipoglicemiante de la glibenclamida Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas 38: 5-11

Annan, S. 1997. Chaya. The Mayan miracle plant. Revista Química Viva 2: 34-55

Barquera, S., Tovar-Guzmán V., Campos-Nonato I, González-Villalpando C. y Rivera Dommarco J. 2003. Geography of diabetes mellitus mortality in Mexico: An epidemiologic transition analysis. Arch. Med. Res. 34(5): 407-414.

Barquero A.A. 2007. Plantas sanadoras: pasado, presente y futuro. Revista Química Viva 2: 1-35

Belitz y Grosch. 1988. Química de los alimentos. Ed. Acribia España: Zaragoza.

Booth, S., Bressani, R., Johns, T. 1992. Nutrient content of selected indigenous leafy vegetables consumed by Kekchi people of Alta Verapaz, Guatemala. J. Food Compos Anal. 5:25-34

Brand-Williams, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebenm Wiss Technol 28:25-30.

Bravo L. 1998. Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutr Rev; 56 (11): 317-333.

Brum R., Honda N., Hess S., Cavalheiro A., Delle Monache F. 1998. *Phytochemistry* 49:1127- 1128.

Bruneton J. 2000. Plantas tóxicas: vegetales peligrosos para el hombre y los animales.

Editorial Acribia. Zaragoza (España). 498-509

Calderín Bouza RO, Prieto Valdés M, Cabrera Rode E. 2007. Síndrome de insulinoresistencia en niños y adolescentes. *Rev Cubana Endocrinol*;18(2).

Carballo, H. 2007. Plantas Tóxicas. Toxicología práctica, Editorial Alfil, México. 539 – 597.

Cardiel J. 1995. Acalypha-Euphorbiaceae. Flora de Colombia. Talleres gráficos Juan Pablo Arbeláez. Bogota

Chesson A, Russell WR y Provan GJ. 1997. Metabolites of the phenylpropanoid pathway - common origin, common properties? In: Polyphenols in foods. Proceedings of a European

COST concerted action scientific workshop 1997, Aberdeen, Scotland: 17-23.

Chung K-T, Wong T-Y, Wei C-I, Huang Y-W y Lin Y. 1998. Tannins and Human Health: A review. *Crit. Rev. Food Sci*; 38 (6): 421-464.

CNTAPHA (Comisión Nacional Técnica Asesora del Programa de Hipertensión Arterial). 2008. Guía para la prevención, diagnóstico y tratamiento. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.

Cornejo Barrera J, Llanas Rodríguez JD, Alcázar Castañeda C. 2008. Acciones, programas, proyectos y políticas para disminuir el sedentarismo y promover el ejercicio en los niños. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 65(6):616-25.

Delgado G., Hernández J., Ríos M., Aguilar M. 1994. *Planta Med* 60: 389- 390.

Díaz, B. J. 1975. La chaya, planta maravillosa: alimenticia y medicinal. Crónica Etnobotánica. Etnobotánica Maya. Mérida, Yuc. México. 48.

Dirección General de Evaluación del Desempeño/ Dirección General de Información en Salud/ Subsecretaría de Innovación y Calidad/ Secretaría de Salud. 2004. Salud México. 46-47.

Donkoh A., Kese A., Atuahene C. 1990. *Anim Feed Sci Tech nol* 30: 155- 162.

Dorantes Cuellar A., and Martínez Sibaja C., 2004. Endocrinología Clínica. 2ª. Ed. Manual Moderno. México. Cap. 32-36.

Esparza Rivera JR, Stone MB, Stushnoff C, Pilon Smith E, Kendall PA, 2006. Effects of Ascorbic acid applied by two hydrocooling methods on physical and chemical properties of green leaf lettuce stored at 5 °C. *Journal of Food Science* 71:270-276.

Federación Mexicana de Diabetes. 2003. Control total de la diabetes para el médico tratante. Editorial Intersistemas, SA de CV. México, DF.

Fernández AA, Novelli EL, Okoshi K, Okoshi MP, Di Muzio BP, Guimarães JF, Fernandes A. 2010. Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. *Biomed Pharmacother* 64: 214 - 219.

Ferns G, Keti V. 2008. HDL-cholesterol modulation and its impact on the management of cardiovascular risk. *Ann Clin Biochem*; 45:122-8.

Figuroa-Valverde L., Díaz-Cedillo F., Camacho-Luis A., López M. R. 2009. Efectos inducidos por *Ruta graveolens* L., *Cnidocolus chayamansa* McVaugh y *Citrus aurantium* L. sobre los niveles de glucosa, colesterol y triacil glicéridos en un modelo de rata diabética. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19(4): 898-907, ISSN 0102-695X. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 12 (3): 220 - 229 ISSN 0717 7917

Finkel and Holbrook. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. 9; 408 (6809):239-47.

Fuentes O, Fuentes M, Badilla S, Troncoso F. 2013. Maqui (*Aristotelia chilensis*) and rutin (quercetin-3-O-rutinoside) protects against the functional impairment of the endothelium-dependent vasorelaxation caused by a reduction of nitric oxide availability in diabetes. vol. 12, núm.3, mayo, 2013, pp.

García-Cervera E., Figuroa-Valverde L., Díaz-Cedillo F., Pool-Gómez E., Torrez-Cutz R., Martínez-Camacho R. 2012. Activity induced by *Jatropha gauderion* glucose concentration in a rat diabetic model. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 6(34):2536-2543. ISSN 1996-0816

Gill Geoffrey V., Pickup John C., Williams Gareth. 2002. Diabetes Aspectos difíciles y controvertidos. Editorial ARS. Medical ISBN 84-95670-08-9

Greenspay Francis S., Gardner David G., 2005. Endocrinología. Básica y clínica. Editorial Manual Moderno 6° edición, pág. 797-850. ISBN 970-729-119-2

Gutiérrez-Zavala A, Ledesma-Rivero L, García-García I, Grajales-Cartillejos O. 2007. Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana Salud Pública* 33 (1): 1-7.

Harborne JB. 1989. General procedures and measurements of total phenolics. In: Harborne J .B. Ed. Plant Phenolics, vol 1, from "Methods in Plant Biochemistry Series": Academic Press, London. 1-28.

Harborne JB. 1993. The flavonoids: Advances in Research Since 1986. Chapman y Hall Ed., London.6-36

INEGI (Instituto Nacional de Geografía e Informática). 2002. Mortalidad general por edad y causas detalladas. Sistemas Nacionales Estadístico y de Información Geográfica

Islas Andrade S., and Revilla Monsalco C., 2005. 3ª. Edición. Mc Graw Hill, Interamericana. México. Cap. 10-16. ISBN. 970104806-7

Kamalakkannan N, Prince PS. 2006A. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol 98: 97 - 103.

Kang YH, Min HG, Kim IJ, Kim YK, Son SM. 2008. Comparison of alanine aminotransferase, white blood cell count and uric acid in their association with metabolic syndrome: A study of corean adults. Endocr J. 55 (6):1093-102.

Kuti, J., Torres, E.S. 1996. Potential Nutritional and Health Benefits of Tree Spinach. In J. Janick (ed.), Progress in new crops. Arlington, VA: ASHS Press, 516-520.

Lagarto P.A., Silva Y.R., Guerra S.I., Iglesias B.L. 2001. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. Phytomedicine 8 (5): 395-400.

Lemon SC, Zapka J, Wenjun L, Estabrook B, Magner R, Rosal MC. 2009. Perceptions of worksite support and employee obesity, activity and diet. Am J Health Behav. 33(3):299-308.

Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Elisaf MS. 2005. Diagnosis and management of the metabolic syndrome in obesity. Obes Rev. 6(4):283-96.

Lima J D, Mazzafera P, da Silva Moraes W, da Silva R B. 2009. Cha: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. Ciencia Rural, Santa María, v.39, n.4, p.1258-1266. ISSN 0103-8478

Loarca-Piña, G., Mendoza, S., Ramos-Gómez, M., Reynoso, R. 2010. Antioxidant, antimutagenic and antidiabetic activities of edible leaves from *Cnidioscolus chayamansa* Mc. Vaugh, Journal of Food Science, 75(2):H68-72.

Martínez-Gordillo, M., J. Jiménez-Ramírez, R. Cruz-Durán, E. Juárez-Arriaga, R. García, A. Cervantes and R. Mejía-Hernández. 2002. Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.* 73: 155-281.

Martínez-Hormaza I., Quintero-Rodríguez G., Márquez-Montiel L., González-Lavaut J.A., Álvarez-Reyes AY Zarragoitía A. 2006. Determinación de la citotoxicidad de extractos de *Erythroxylum confusum* Britt, mediante el método de la *Artemiasalina Acta Farm. Bonaerense* 25(3): 429-31

Martínez-Valverde, Isabel, Periago, María Jesús y ROS, Gaspar. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *ALAN*, mar. Vol.50, no.1, p.5-18. ISSN 0004-0622

McLaughlin JL, Chang Ch, Smith DL. 1988. Simple bioassay for the detection and isolation of bioactive natural products. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmacal Sciences, Purdue University, West Lafayette, IN 47907, USA.

McLaughlin J, Lingling L, Rogers M. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Inform J.* 1998; 32: 513-524.

McVaugh 1994. Chaya (*Cniduscolus chayamansa*). The Horticultural Sciences Department, Institute of Food Agricultural Sciences, University of Florida. Document HS578.

Mercado-Mercado, G. De la Rosa, L.C. Wall-Medrano, A. López Díaz, J.A. Álvarez-Parrilla, E. 2013. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutr Hosp.* 28(1):36-46 ISSN 0212-1611

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mc Laughlin JL. 1982. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45:31-34.

Molina A., Curley L. M., and Bressani R. 1997. Redescubriendo el valor nutritivo de la Chaya (*Cniduscolus chayamansa*; *Eupharbiacea*). *Ciencia en acción* 3-14

Molina, A., Solórzano, M. Y Bressani, R. 1999. Procesamiento de las hojas de Chaya (*Cniduscolus chayamansa*; *Eupharbiacea*) para consumo humano: I. Cocción en agua hirviendo y almacenamiento de hojas frescas. *Ciencia en Acción* 6.

Molina-Salinas GM, Said-Fernández S Modified microplate cytotoxicity assay whit brine shrimp larvae (*Artemia salina*). *Pharmacologyonline.* 2006; 3: 633-638.

Murillo J., P. Franco. 1995. Las Euforbiáceas de la Región de Araracuara. Estudios en la Amazonia Colombiana. Vol IX. Editorial Presencia, Santafé de Bogotá, D.C.

Murillo J., Berry P., M. V. Arbeláez. 1999. Una especie nueva de *Crotón* (Euphorbiaceae) *Novon* 9: 64-66

Navarro VM, Rojas G, Zepeda LG, Avilés M, Fuentes M, Herrera A, Jiménez E. 2006. Antifungal and Antibacterial Activity of Four Selected Mexican Medicinal Plants. *Pharmaceutical Biology* 44(4): 297-300.

Nigenda G, Mora-Flores G, Aldama-López S, Orozco-Núñez. 2001. "La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia." *Salud Pública Mex* 43: 41-51.

Patricio D., Delanty N., 2000. Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *Am. J. Med.* 109: 577-585

Pedrozo W, Castillo Rascón M, Bonneau G, Ibáñez de Pianesi M, Castro Olivera C, Jiménez de Aragón S. Ceballos B, Gauvry G. 2008. Síndrome metabólico y factores de riesgo asociados con el estilo de vida de adolescentes de una ciudad de Argentina, 2005. *Rev Panam Salud Pública*, 24(3):149-60.

Pérez, C., Sáenz, A. y Barajas, L. 2008. La química verde como herramienta indispensable en el aprovechamiento integral y sustentable de los recursos del semidesierto mexicano. En: *Fitoquímicos Sobresalientes del Semidesierto Mexicano: de la planta a los químicos naturales y a la biotecnología*. Editorial: Path Design S. A. México, 67-82 pp

Pushpam Kumar, 2004. Valuation of medicinal plants for pharmaceutical uses. *Curr Sci* 86: 930-937.

Quezada T., Acero G., Fuantos J., Martínez R., López M., Loarca G. 2006. "Evaluación químico proximal y concentración de vitamina C en hojas de chaya (*Cnidocolus chayamansa*). *Revista Salud Pública y Nutrición*. 14:12.

Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37:1595-1607

Rentería I. 1994. Contribución al conocimiento del género *Alchornea* Sw. (Euphorbiaceae) en Colombia., Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 79-88

Ricciardi R. 2005. Sedentarism: A concept analysis. *Nursing Forum*. 40(3):79-87.

Rooss Ibarra Jeffrey and Molina Cruz Alvaro. 2002. The ethnobotany of Chaya (*Cnidocolus chayamansa* ssp. *chayamansa*): A nutritious Maya vegetable. *Economic Botany*.56: 350-365.

Ross-Ibarra, J., P.L. Morrell and B.S. Gaut, 2002. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 104: 8641-8648

Seron VD y Furlan MMD P. 2010. Papel do Chá Verde e seus Componentes no Tratamento do Diabetes Mellitus Tipo 2. *Revista Saúde e Pesquisa*, v. 3, n. 3, p. 379-383, set./dez. ISSN 1983-1870

Shahidi F y Naczk M. 1995. *Foods phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Application.* Tecnomomic, Publishing CO., INC eds. Lancaster, Pennsylvania, USA.

Singleton VL, Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.

Soca, P.,E. 2009. El síndrome metabólico: un alto riesgo para individuos sedentarios. *Salud Pública Mex* 20(1)

Solís PN, Wright CW, Anderson MM, Gupta MP, Phillipson JD. 1993. A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta medica* 59:250-252.

Steinmann, V. W. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Bot. Mex.* 61: 61-93.

Taddei-Bringas GA, Santillana-Macedo MA, Romero-Cancio JA, Romero-Téllez MB. 1999. Aceptación y uso de las plantas medicinales en medicina familiar. *Salud Pública. Mexico.* 41(3):216-220.

The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 2002. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 25: S5-S20.

Torrico, F. M1.; Gabay, J1.; Suárez, A. I.1 y Compagnone, R.S. 2003. Estudio Toxicológico de *Cnidocolus chayamansa* McVaugh *Revista Facultad de Farmacia.* Vol. 66.Nº 2.

Tsimidou, M. 1998. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Ital J Food Sci.* 2,(10): 99-116

Ventura, P. R. 2004. Evaluación nutrimental y nutracéutica de la hoja de chaya (*Cnidocolus chayamansa*). Tesis de Maestría. Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República. Universidad Autónoma de Querétaro.33-144.

Ventura, J., Belmares, R., Aguilera, A., Gutiérrez, G., Rodríguez, R. y Aguilar, C. N. 2008. Fungal Biodegradation of Tannins from Creosote Bush (*Larrea tridentata*) and Tar Bush

(*Flourensia cernua*) for Gallic and Ellagic Acid Production. *Food Technology and Biotechnology*. 46: 2, 213–217.

Windholz, M. 1995. The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Windholz, M. Ed. U.S.A. 441-466

MATERIAL ELECTRÓNICO

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (BDMTM). 2009. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Consultado Octubre 2014. Disponible en :<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7483>

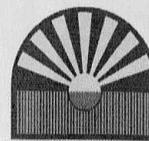
Chen Zp. 1994. Studies on the anti-tumor, anti bacterial and wound-healing properties of Dragon's blood. Consultado octubre 2014. Disponible en <http://www.mdidea.com/products/proper/proper027research.html>

Federación Internacional de Diabetes (IDF) 2006. Consultado octubre 2014. Disponible en <http://www.unitefordiabetes.org> y www.eatlas.idf.org/media

OMS (2003). Medicina Tradicional. 56a. Asamblea Mundial de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Consultado octubre 2014. Disponible en http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA56/sa56r31.pdf

inifap

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

México
ISSN: 2007-0934

REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Texcoco, Estado de México, 25 de noviembre de 2014
Ref.: 651-14

DR. JUAN RAMÓN ESPARZA RIVERA
PROFESOR-INVESTIGADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS GÓMEZ PALACIO
UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO
PRESENTE:

Por medio de la presente se hace constar que el manuscrito titulado: "***Cnidoscopus chayamansa*** hidropónica orgánica y su capacidad hipoglucemiante, calidad nutraceutica y toxicidad" del cual son autores(as): **Ramón Valenzuela Soto, María Eufemia Morales Rubio, María Julia Verde Star, Azucena Oranday Cárdenas, Pablo Preciado-Rangel, Jacob Antonio González y Juan Ramón Esparza-Rivera**, fue aceptado para ser publicado en el Vol. 6 Núm. 4 16 de mayo-29 de junio de 2015 en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Atentamente

DRA. DORA MA. SANGERMAN-JARQUÍN
EDITORA EN JEFA DE LA REVISTA
MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

c.c.p. * Archivo
DMSJ/mdpg

Carretera Los Reyes-Texcoco, km 13.5. Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250
E-mail: revista_atm@yahoo.com.mx. Tel. y Fax: 01 595 9212681