

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE *Tecoma stans*
Y *Eriobotrya japonica* Y SU RELACIÓN CON LA
PRESENCIA DEL CROMO COMO FACTOR
DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.**

Por

MA. DE JESÚS IBARRA SALAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ACENTUACIÓN
EN QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES

Enero, 2009

**EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE *Tecoma stans* Y *Eriobotrya japonica*
Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DEL CROMO COMO
FACTOR DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.**

Comité de Tesis

Dra. María Julia Verde Star
Director Interno

Dr. Pedro César Cantú Martínez
Director Externo

Dr. Abelardo Chávez Montes
Secretario

Dra. Catalina Rivas Morales
Vocal

Dra. Azucena Oranday Cárdenas
Vocal

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Julia Verde Star, quién al dirigir este trabajo de investigación se mostró siempre dispuesta a apoyarme, a darme confianza y enseñarme el camino correcto para concluir esta tesis.

Al Dr. Pedro César Cantú Martínez por su colaboración y el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A los maestros: Dra. Azucena Oranday Cárdenas, Dra. Catalina Rivas Morales y Dr. Abelardo Chávez Montes, por apoyarme con su experiencia, sus consejos y su amable disposición en la revisión de este trabajo.

A la MSP. Luz Natalia Berrún de Tamez y MSP. Yolanda Elva de la Garza de Vásquez, ex directora y actual directora de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, UANL por brindarme siempre su apoyo para realizar esta investigación.

A mis maestros tutores:

Dra. Carmina Calzado Flores, Dra. Hilda Gámez González y Dr. Marco Alvarado Vázquez por su guía y constante revisión de los avances en este trabajo.

Al Dr. Ricardo Gómez Flores por facilitarme las instalaciones del bioterio.

Al MVZ. Ramón Belmontes Hernández por su valiosa ayuda en el manejo de los animales durante toda la investigación.

Al Biólogo Mauricio González Ferrara por su ayuda en la colecta de las plantas y sus orientaciones en el uso de las mismas.

A la Lic. Nut. Emily Paloma Espinoza Morales y Lic. Nut. América Lizbeth González Mata por su colaboración en este trabajo.

Al Centro de Investigaciones Biomédicas del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social (CIBIN) por facilitarme el equipo para liofilizar los extractos de las plantas.

A mi compañera y amiga Diana Caballero Hernández por su apoyo y sugerencias.

A todas las personas que con su desinteresada ayuda colaboraron en este trabajo, ¡Muchas gracias!

Quiero hacer patente mi agradecimiento:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero otorgado, mediante la beca con No. de registro 194858.

Al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León (PAICYT,UANL) por el apoyo financiero brindado con los proyectos PAICYT 2005 y 2006.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme tener vida.

A mi esposo: Jorge Galván Solís, por su apoyo incondicional durante toda la investigación.

A mis hijos: Jorge Andrés y Ana Lucía por ser la inspiración para continuar superándome.

A mis padres: José Refugio Ibarra González (q.e.p.d) y Ma. del Refugio Salas de Ibarra, por darme la vida, por su ejemplo, sus consejos y dedicación.

A mis hermanos: Esperanza, Rosalba, Ramona, Ma. Concepción, Ma. del Consuelo, José Raúl y Yolanda Raquel por su constante apoyo.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS-----	iii
LISTA DE TABLAS-----	ix
LISTA DE FIGURAS-----	xi
RESUMEN-----	xiii
ABSTRACT-----	xiv
1. INTRODUCCIÓN-----	1
2. HIPÓTESIS-----	4
3. OBJETIVOS-----	5
3.1 Objetivo general-----	5
3.2 Objetivos particulares-----	5
4. ANTECEDENTES-----	7
4.1 Generalidades de la herbolaria-----	7
4.2 La Diabetes, un problema de salud pública-----	9
4.2.1 Generalidades-----	9
4.2.2 Diabetes mellitus tipo I-----	10
4.2.3 Diabetes mellitus tipo II-----	11
4.2.4 Diabetes mellitus gestacional-----	13
4.3 Descripción de la estreptozotocina (EZT) -----	14
4.3.1 Mecanismo y efecto diabetogénico de la EZT-----	15
4.4 Medicamentos hipoglucemiantes-----	16
4.4.1 La Insulina en la regulación de la glucosa-----	17
4.5 Plantas medicinales-----	21
4.6 Características y taxonomía de las especies-----	22
4.6.1 <i>Tecoma stans</i> -----	22
4.6.2 <i>Eriobotrya japonica</i> -----	24
4.7 Características fitoquímicas de metabolitos-----	26
4.7.1 Saponinas y sapogeninas-----	26
4.7.2 Sesquiterpenlactonas-----	27

4.7.3 Esteroles y metilesteroles-----	28
4.7.4 Flavonoides-----	28
4.7.5 Coumarinas-----	29
4.7.6 Alcaloides-----	30
4.8 Cromo como factor de tolerancia a la glucosa-----	31
4.8.1 Cromo, resistencia a la insulina y tolerancia a la glucosa-----	32
4.8.2 Cromo y diabetes mellitus tipo I-----	33
4.8.3 Cromo y diabetes tipo II-----	33
4.8.4 Mecanismo de acción del cromo-----	34
5. MÉTODOS-----	35
5.1 Área de recolección, colecta e identificación de la especie-----	35
5.2 Preservación y transporte-----	37
5.3 Secado y molienda de las especies vegetales-----	38
5.4 Obtención de extractos-----	39
5.4.1 Liofilización del extracto acuoso-----	41
5.5 Realización de pruebas fitoquímicas-----	42
5.6 Cromatografía en capa fina (CCF) -----	42
5.7 Determinación del cromo-----	44
5.8 Animales estudiados-----	45
5.9 Determinación de la dosis óptima del hiperglucemiante (EZT) -----	46
5.10 Producción experimental de modelos diabéticos-----	49
5.11 Determinación de la dosis de la planta para disminuir la hiperglucemia--	50
5.12 Determinación de glucosa sanguínea-----	51
5.13 Preparación de la dosis de picolinato de cromo-----	53
5.14 Planteamiento experimental-----	53
5.15 Determinación de glucosa urinaria, comportamiento hepático, renal y equilibrio ácido-base-----	55
5.16 Análisis de datos-----	55
6. RESULTADOS-----	57
6.1 Rendimiento de los extractos-----	57
6.2 Pruebas fitoquímicas-----	57
6.3 Cromatografía en capa fina-----	59
6.4 Concentración de cromo en plantas-----	61
6.5 Obtención de dosis óptima de EZT-----	61
6.6 Dosis de plantas para reducir la hiperglucemia-----	62
6.7 Evaluación del efecto antidiabético de las plantas en estudio-----	65
6.8 Resultados del uroanálisis-----	70
7. DISCUSIÓN-----	75
8. CONCLUSIONES-----	81
APÉNDICE-----	83

TABLA 17. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (ego) en los grupos de animales no diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con <i>T. stans</i> -----	83
TABLA 18. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (ego) en los grupos de animales no diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con <i>E. japonica</i> -----	84
TABLA 19. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (ego) en los grupos de animales no diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con <i>T. stans</i> -----	84
TABLA 20. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (ego) en los grupos de animales no diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con <i>E. japonica</i> -----	85
LITERATURA CITADA-----	86
RESUMEN BIOGRÁFICO	

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Análisis fitoquímico en los extractos de las hojas de <i>T. stans</i> y <i>E. japonica</i> -----	58
2. Cromatografía de cada extracto y revelación de alcaloides y sustancias terpénicas-----	60
3. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley en seguimiento por 45 días después de administrada las dosis de 25, 35 y 45 mg de EZT-----	61
4. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley en seguimiento por 7 días después de administrada la segunda dosis de 25, 35 y 45 mg de EZT---	62
5. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar las diferentes dosis de <i>T. stans</i> -----	63
6. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar 25 g/L de la infusión de <i>T. stans</i> -----	64
7. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar las diferentes dosis de <i>E. japonica</i> -----	64
8. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar 40 g/L de la infusión de <i>E. japonica</i> -----	65
9. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas en seguimiento después de	

administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de <i>T. stans</i> y 200 µg de picolinato de cromo-----	66
10. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley no diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de <i>T. stans</i> y 200 µg de picolinato de cromo-----	67
11. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de <i>E. japonica</i> y 100 µg de picolinato de cromo-----	68
12. Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley no diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de <i>E. japonica</i> y 100 µg de picolinato de cromo-----	69
13. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina en los grupos de animales diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de <i>T. stans</i> y 200 µg de picolinato de cromo-----	72
14. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos 40 g/L de <i>E. japonica</i> y 100 µg de picolinato de cromo -----	73
15. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de <i>T. stans</i> y 200 µg de picolinato de cromo -----	73
16. Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos 40 g/L de <i>E. japonica</i> y 100 µg de picolinato de cromo -----	74

LISTA DE FIGURAS

Figura
Página

1.	Estructura química de estreptozotocina (EZT)-----	15

		22
2.	Ejemplar de la planta <i>Tecoma stans</i> -----	24

		36
3.	Ejemplar de la planta <i>Eriobotrya japonica</i> -----	38

		39
4.	Ubicación del área de estudio-----	40

		41
5.	Molino industrial-----	42

		43
6.	Filtración de extractos-----	44

		45
7.	Planta con solvente en agitador eléctrico-----	45

		46
8.	Extracto recién liofilizado-----	47

		48
9.	Pruebas fitoquímicas con reacciones de color-----	

10.	Cromatografía en capa fina en corrimiento-----	
11.	Revelado de cromatografía para alcaloides-----	
12.	Espectrofotómetro de absorción atómica-----	
13.	Animal en estudio en jaula metabólica-----	
14.	Monitoreo de peso-----	
15.	Preparación del hiperglucemiante (EZT)-----	
16.	Manipulación del animal-----	
-		48
17.	Inoculación intraperitoneal de EZT-----	50
---		52
18.	Jaulas metabólicas-----	52

19.	Sangrado de la vena caudal de la cola del animal-----	67

20.	Determinación de glucosa sanguínea-----	
---		68
21.	Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea en animales diabéticos durante el tiempo de tratamiento con 30 g/L de <i>T. stans</i> y 200 µg de picolinato de cromo -----	69

22.	Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea en animales no diabéticos durante el tiempo de tratamiento con 30 g/L de <i>T. stans</i> y 200 µg de picolinato de cromo -----	70

23.	Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea	

en animales diabéticos durante el tiempo de tratamiento con
40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo-----

24. Comportamiento de la concentración de glucosa
sanguínea en animales no diabéticos durante el tiempo de
tratamiento con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato
de cromo-----

RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue realizar la caracterización fitoquímica y determinación del cromo como factor de tolerancia a la glucosa en hojas de *Tecoma stans* (L) Juss Ex. Kunt y *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lind , observando el efecto hipoglucemiante de estas plantas en animales de laboratorio con diabetes mellitus inducida experimentalmente. Se colectó *T. stans* en Los Rayones, N.L. y *E. japonica* en Monterrey, N.L., se separaron las hojas, se secaron y molieron. Las hojas se sometieron a extracción acuosa, etanólica y hexánica. Se concentraron los extractos y se realizaron pruebas fitoquímicas. Se identificaron alcaloides por cromatografía en capa fina en los extractos de *T. stans* y sustancias terpénicas en *E. Japonica*. El cromo se determinó por

espectrofotometría de absorción atómica. Se determinó la dosis óptima del hiperglucemiante utilizando estreptozotocina (Ezt) en ratas Sprague-Dawley, hasta alcanzar una diabetes moderada (entre 170-300 mg/dL.) Además, se determinó la dosis de las plantas que disminuyó la hiperglucemia. El efecto antidiabético se determinó como sigue: Grupos diabéticos: agua, infusión de la planta, picolinato de cromo, infusión combinada con picolinato de cromo. Grupos no diabéticos: mismos tratamientos que los grupos diabéticos. La vía de administración fue oral en todos los casos. Se determinó glucosa sanguínea, urinaria, comportamiento renal y hepático. Para comparar los tratamientos se utilizó ANOVA de una sola vía y prueba de Tukey. Resultados: En las pruebas fitoquímicas de *T. stans* para los 3 extractos se encontró presencia de: alcaloides, coumarinas y sesquiterpenlactonas y en los extractos de *E. japonica* se encontró la presencia de sesquiterpenlactonas, esteroides y metilesteroides. Se encontraron 54 µg/100g y 279 µg/100g de cromo en *T. stans* y *E. japonica*, respectivamente. Las cromatografías de extractos de *T. stans* y *E. japonica* dieron positivas para alcaloides y sustancias terpénicas respectivamente. Se utilizaron 45 mg/kg de peso para producir la hiperglucemia. La hiperglucemia disminuyó hasta en un 33.5 % con 30 g/L de *T. stans*, 10.1% con picolinato de cromo y 32.3% con la mezcla de *T. stans* y picolinato de cromo. En el bioensayo para *E. japonica*, la hiperglucemia disminuyó en un 18.8 % con 40 g/L de *E. japonica* y 13.7% con picolinato de cromo y la mezcla de *E. japonica* con picolinato de cromo redujo un 19.1%.; para ambas plantas en 45 días de tratamiento. Se observó que el extracto etanólico de *T. stans* y el extracto acuoso de *E. japonica* son los que contienen mayor número de familias de metabolitos secundarios. Se identificó la presencia de alcaloides y sustancias terpénicas en la cromatografía de los 3 extractos de *T. stans* y *E. japonica*, respectivamente. Se reporta la presencia de cromo en *T. stans* y *E. japonica* lo que puede favorecer el efecto hipoglucemiante en estas especies. Al administrar los diferentes tratamientos, los animales tratados con infusión de *T. stans* y *E. japonica* fueron los que mostraron mayor porcentaje de disminución de la hiperglucemia.

ABSTRACT

The main objective of this study was to achieve the phytochemical characterization of *Tecoma stans* and *Eriobotrya japonica* leaves, and to determine if chromium is the factor behind their hypoglucemiant action in experimental animals with induced diabetes. *T. stans* was collected, the leaves separated, dried and ground. Chromium content was determined by spectrophotometry of atomic absorption. The hyperglucemiant streptozocin (STZ) was employed to induce diabetes in Sprague Dawley male rats at a dose of 45 mg/kg. Diabetic animals were treated with *T. stans* and *E. japonica* to determine the dose that diminished hyperglucemy. The experimental treatments were the following; 1) diabetic groups: water, infusion of the plant,

chromium picolinate and infusion combined with chromium picolinate, 2) non-diabetic groups: same treatments as diabetic groups. Route of administration was oral in all cases. The results were subjected to analysis of variance of a single via and Tukey test. Results: Chromium was found in *T. stans* (54 µg/100g) and *E. Japonica* (279 µg/100g). In the phytochemical tests of *T. stans* was found the presence of: alkaloids, coumarins and sesquiterpenlactons for the 3 extracts and in *E. japonica* extracts was found the presence of sesquiterpenlactons, sterols and metilsterols. Glucose levels decreased up to 33, 5 % with *T. stans*, 10, 1% with chromium picolinate and 32, 3% with the combination of *T. stans* and chromium picolinate in 45 days. Glucose concentration in the non-diabetic groups oscillated between 67,0 and 82,0 mg/dL. In *E. japonica*, glucose levels decreased up to 18.8 % con 40 g/L de *E. japonica* y 13.7% with chromium picolinate and 19.1 % with the combination of *E. japonica* and chromium picolinate in 45 days. The presence of chromium in *T. stans* and *E. japonica* leaves could improve their hypoglucemiant properties. When administering the different treatments in the diabetic models, the animals treated with *T. stans* infusion and combination of *E. japonica* and chromium picolinate showed the greater diminishing of hyperglucemy.

1. INTRODUCCIÓN.

La Diabetes Mellitus se puede definir como un síndrome caracterizado por un estado de hiperglucemia crónica que obedece a la falta parcial o total de actividad insulínica, lo cual origina anormalidades en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (Franz, 2001).

Entre los tipos de diabetes, los más importantes son: la diabetes tipo I, que afecta sobre todo a individuos en la etapa infanto-juvenil y que necesitan el tratamiento con insulina por vía parenteral para sobrevivir; la diabetes tipo II, que afecta generalmente a individuos adultos que no requieren insulina para sobrevivir, sin embargo pueden

necesitarla para controlarse correctamente; la diabetes gestacional, siendo la diabetes diagnosticada durante el embarazo; y la diabetes secundaria, que es una forma de referirse a todas aquellas diabetes que son secundarias a algún proceso (Forga y Zulet, 2002; Martínez 2001).

Investigaciones etnobotánicas realizadas en México, reportan que la población utiliza entre 150 y 269 especies de plantas utilizadas empíricamente para el control de la diabetes mellitus. Algunas investigaciones sugieren que es necesario un estudio más exhaustivo de este tipo de plantas medicinales, para poder demostrar su utilidad en el manejo de la diabetes mellitus no insulino dependiente (Alarcón *et al.*, 1993; Hernández *et al.*, 2002). Entre las plantas medicinales del noreste de México, se ha encontrado que algunas de estas plantas son utilizadas por las personas como antidiabéticas (González, 1998). *Opuntia streptacantha* y *Tecoma stans* son las plantas mexicanas más utilizadas como antidiabéticas y son también las plantas hipoglicémicas más estudiadas sobre el efecto hipoglucemiante. Además, es importante intensificar los estudios químicos y farmacológicos de las plantas con este efecto porque solo pocos agentes hipoglicémicos han sido aislados y caracterizados químicamente (Hernández *et al.*, 2002).

Por otro lado se ha encontrado que el mineral cromo, se utiliza en algunos productos dietéticos en forma de picolinato de cromo, ha demostrado tener efectos benéficos en diversos estudios, sobre todo, en aquellos relacionados con la diabetes y el metabolismo de carbohidratos; estos estudios comprueban que el cromo es un factor primordial para el buen metabolismo del azúcar sanguíneo (Anderson, 2000; Kalman, 2003; Vinson

and Hsiao, 1985). El factor dominante en la rápida elevación en la incidencia de diabetes está relacionado a factores dietéticos. Uno de los marcadores controlables de envejecimiento prematuro es la capacidad del cuerpo para manejar la glucosa (tolerancia a la glucosa). Ingestas incrementadas de azúcares simples y grasas, los cuales se sabe que disminuyen la sensibilidad de la insulina, son probablemente las causas de la incidencia incrementada de diabetes. Los azúcares simples y las grasas son también bajos en micronutrientes (cromo, cobre, manganeso, selenio, vanadio y zinc). De esos micronutrientes, el que se consume en menor cantidad en la dieta y que muestra tener los mayores efectos sobre los signos de diabetes en humanos es el cromo. El cromo se ha encontrado como un factor vital en la capacidad del cuerpo para usar la glucosa eficientemente. El cromo es el nutriente más importante en el mantenimiento de la sensibilidad a la insulina, ya que la ayuda a transportar el azúcar (glucosa) a las células y es parte del factor de tolerancia a la glucosa (Anderson, 1998).

En algunas áreas del noreste de México, como es el estado de Nuevo León, podemos encontrar plantas que se han estudiado para diversos efectos medicinales, entre ellos el efecto hipoglucemiante. Algunas de las plantas que se encuentran en la región con efecto hipoglucemiante son: diente de león, ortiga u ortiguilla mayor, cebolla, ajo, injerto de mezquite, lágrima de San Pedro, lima, matarique, guayacán (González, 1998), níspero (Adame y Adame, 2000), tronadora (Hernández *et al.*, 2002); siendo las 2 últimas objeto de esta investigación. Por esta razón llama la atención realizar la evaluación fitoquímica de dos especies *T. stans* (L) Juss. Ex. Kunt (tronadora), y *E. japonica* (níspero) consideradas con efecto hipoglucemiante; las cuales se encuentran en el noreste de nuestro país y están reportadas con efecto antidiabético (González, 1998; Adame y

Adame 2000; Hernández *et al.*, 2002); relacionando esta identificación con la presencia del elemento cromo como factor de tolerancia a la glucosa y observando el efecto hipoglucemiante de los extractos de estas plantas en un modelo de ratas diabéticas inducidas experimentalmente.

2. HIPÓTESIS

Existe reducción de la hiperglucemia sobre modelos de animales diabéticos inducidos experimentalmente que ingieren *Tecoma stans* y *Eriobotrya japonica* y se potencia el efecto hipoglucemiante cuando en la planta se encuentra presente el elemento cromo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto hipoglucemiante de *Tecoma stans* y *Eriobotrya japonica* en animales de laboratorio con diabetes mellitus inducida experimentalmente y determinar la concentración del cromo como factor de tolerancia a la glucosa.

3.2 Objetivos Particulares

1. Determinar los metabolitos que se encuentran presentes en los extractos de *T. stans* y *E. japonica* y separarlos por cromatografía en capa fina.

2. Determinar la concentración de cromo en las plantas en estudio.
3. Inducir la diabetes y monitorear el contenido de glucosa sanguínea y urinaria en ratas de la raza Sprague-Dawley.
4. Suministrar por vía oral el extracto acuoso de plantas y evaluar el efecto hipoglucemiante sobre el modelo de ratas diabéticas.
5. Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso en presencia y ausencia de cromo como picolinato de cromo.
6. Evaluar el comportamiento renal y hepático en los sujetos de estudio por medio de exámenes de orina y sangre.

4. ANTECEDENTES

4.1 Generalidades de la Herbolaria

Históricamente, los productos de origen vegetal, particularmente las plantas medicinales y sus extractos, han pasado a tener un papel de supremacía en el arsenal terapéutico a un discreto segundo plano, para volver a tener, en las dos últimas décadas, una presencia cada vez mayor en la terapéutica (González, 1998).

El retorno hacia los productos de origen natural en terapéutica, además del regreso a lo natural que ha habido en forma general en la sociedad se ha visto favorecido por:

- a) El descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos de síntesis.
- b) Un mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados.
- c) El aumento de la automedicación, ya que los productos fitoterapéuticos son, en general menos peligrosos y por lo tanto más aptos para la automedicación.
- d) El desarrollo de métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad.
- e) El desarrollo de nuevas formas de preparación y de administración de las drogas vegetales y sus extractos (Pamplona, 1999).

No debemos olvidar los límites de la fitoterapia en la época actual, si bien los productos fitoterapéuticos suelen tener márgenes de efectividad más amplios y suelen dar menos efectos secundarios que los fármacos sintéticos, lo natural no significa que sea inocuo. Actualmente existe una base científica que apoya la eficacia de muchos productos fitoterapéuticos para determinadas indicaciones. La eficacia se consigue solo con el uso adecuado de los preparados fitoterapéuticos, tanto en lo que se refiere a las indicaciones como a la forma de administración. Por lo tanto no debemos maximizar ni minimizar las posibilidades de la fitoterapia. El lugar que ésta debe ocupar en la terapéutica es, ni más ni menos, aquel por el cual ha demostrado su utilidad (González, 1998; Pamplona, 1999).

Diversos estudios se han realizado en modelos animales en donde se refleja la actividad hipoglucémica de algunas plantas (Alarcón *et al.* ,2003; Calzado *et al.*, 2001). Además, se han realizado trabajos de investigación, los cuales analizan con exactitud la composición de muchísimas plantas medicinales, de modo que las podemos utilizar

como mejor conviene. A partir de las sustancias activas de una planta, y de los resultados que proporciona la investigación farmacéutica y clínica, se deducen sus propiedades y aplicaciones medicinales. (Pamplona, 1999; Rossi *et al.*, 2002; Del Castillo *et al.*, 2004).

Es aparente que la prevención, basada en conocimientos tradicionales, y el uso adecuado de plantas medicinales con propiedades comprobadas, está revirtiendo una tendencia que pudo haberlos extinguido. Más del 60% de la población mundial sigue utilizando la herbolaria para procurar su propia salud, y alrededor del 50% de los productos farmacéuticos utilizados hoy en día, proviene de productos vegetales (Pamplona, 1999).

4.2 La Diabetes, un Problema de Salud Pública

4.2.1 Generalidades

La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, producida por falta de secreción de insulina, falta de acción de la insulina o ambos mecanismos, y conduce, cuando la hiperglucemia es importante, a la aparición del síndrome hiperglucémico (caracterizado fundamentalmente por poliuria, polidipsia y pérdida de peso) y tardíamente, como consecuencia de la hiperglucemia crónica, disfunción y lesión en diversos órganos, especialmente en ojos, riñón, nervios, corazón y vasos, complicaciones que producen una importante alteración del estado de bienestar y una disminución de la esperanza de vida (ADA, 1997).

Se admite que hay una situación intermedia entre la normalidad y la diabetes mellitus, llamada intolerancia hidrocabonada. Esta puede detectarse en ayunas o tras sobrecarga oral de glucosa (SOG). En si misma no representa un estado patológico, pero supone un factor de riesgo para futura diabetes y enfermedad cardiovascular (Forga y Zulet, 2002).

El diagnóstico de la diabetes mellitus se establece cuando se da cualquiera de las siguientes tres circunstancias (ADA, 1997):

- Existen síntomas de diabetes y la determinación de glucemia plasmática en cualquier momento del día es ≥ 200 mg/dL.
- La glucemia plasmática en ayunas de, al menos, 8 horas es ≥ 126 mg/dL.
- La glucemia a las 2 horas de la SOG es ≥ 200 mg/dL. La SOG debe realizarse dando 75 g de glucosa anhidra disueltos en agua.

4.2.2 Diabetes Mellitus Tipo I

La diabetes tipo 1, afecta sobre todo a individuos en la etapa infanto-juvenil y que necesitan el tratamiento con insulina, por vía parenteral, para sobrevivir. La diabetes mellitus tipo 1 corresponde a un 10-20% de todos los casos de diabetes, y se caracteriza por la deficiencia de insulina desde el momento del diagnóstico clínico, lo que hace necesario el tratamiento sustitutivo de esta hormona de por vida. Aunque la mayoría de los casos se diagnostican en torno a los 14 años, ahora sabemos que puede manifestarse

a cualquier edad. La diabetes mellitus tipo 1 es una enfermedad autoinmune, esto quiere decir que el fallo original está en el sistema inmunitario, cuya función principal es defender al organismo de lo extraño (como ocurre en las infecciones, en las que los leucocitos y anticuerpos defienden al cuerpo), y que en estas enfermedades reconoce erróneamente como ajeno un tejido propio y lo destruye. En el caso de la diabetes mellitus tipo 1 son atacadas y destruidas las células productoras de insulina: las células beta del páncreas. Al carecer de insulina no se puede realizar correctamente el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas. El desencadenamiento de este ataque autoinmune se produce por una combinación de factores genéticos y ambientales. Entre los factores ambientales, los virus parecen ser los candidatos más probables. Hasta el momento no se han identificado causas específicas (incluyendo vacunas y elementos de la dieta) que puedan desencadenar esta enfermedad en personas que deben tener previamente una susceptibilidad genéticamente condicionada (ADA, 2001).

4.2.3 Diabetes Mellitus Tipo II

La diabetes tipo 2, afecta generalmente a individuos adultos que no requieren insulina para sobrevivir, aunque pueden necesitarla para controlarse correctamente. La diabetes mellitus tipo 2 supone el 80-90 % de los casos de diabetes. La frecuencia de la diabetes mellitus está aumentando en todo el mundo de forma acelerada. Si en 1997 los datos de prevalencia se encontraban en torno a 124 millones de personas, se estima que en el año 2025 esta cifra llegará a 300 millones. En este tipo de diabetes se producen trastornos metabólicos caracterizados por una elevación inapropiada de la glucosa en sangre (hiperglucemia) que da lugar a complicaciones crónicas por afectación de

grandes y pequeños vasos y nervios. La alteración subyacente en esta enfermedad es la dificultad para la acción de la insulina (como una pérdida de sensibilidad de los tejidos a esta hormona) que denominamos insulinoresistencia y una secreción inadecuada de insulina por las células encargadas de su producción en el páncreas. Además de aumentar la concentración de glucosa la acción deficiente de la insulina se traduce frecuentemente en elevación de los niveles de colesterol y/o triglicéridos. La mayor parte de los casos de diabetes mellitus tipo 2 se producen en el contexto de lo que llamamos Síndrome Metabólico. En este síndrome se asocian diabetes, hipertensión arterial, aumento de los niveles de colesterol, triglicéridos y/o ácido úrico y sobrepeso probablemente debidos también a la insulinoresistencia. El Síndrome Metabólico eleva notablemente el riesgo cardiovascular y es una causa fundamental de muerte en los países desarrollados. Es bien conocida la mayor frecuencia de diabetes tipo 2 en personas con antecedentes familiares de diabetes. En los últimos años se han descubierto muchos genes relacionados con la posterior presentación de diabetes aunque este componente genético es complejo y, posiblemente, debe acompañarse de factores ambientales relacionados en este caso fundamentalmente con los hábitos de vida: sedentarismo y alimentación inadecuada. El 80 % de las personas con diabetes tipo 2 son obesas.

La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza precisamente por ser prácticamente asintomática en sus fases iniciales. Este es en realidad el gran problema, ya que diagnosticamos diabetes con retraso (varios años con frecuencia) y se calcula que hasta un 50 % de personas con diabetes mellitus tipo 2 permanecen sin diagnosticar en este

momento. Esto hace que con frecuencia (hasta un 20 %) las personas con este tipo de diabetes presenten signos de complicaciones en el momento del diagnóstico.

Todo ello hace que la diabetes mellitus tipo 2 haya que buscarla de forma específica en las personas con riesgo, esto es:

- Cualquier persona a partir de los 45 años
- Menores de 45 con:
 - Obesidad
 - Antecedentes familiares de DM
 - Diabetes durante embarazos o niños con peso al nacer superior a 4 kg.
 - Hipertensión arterial
 - Colesterol o triglicéridos elevados
 - Antecedentes de alteraciones de la glucosa en sangre

El tratamiento de la diabetes tipo 2 se basa en tres pilares fundamentales: seguimiento de un plan de alimentación equilibrado, práctica de ejercicio físico regular y tratamiento farmacológico personalizado. Como hemos indicado anteriormente, un buen número de personas con este tipo de diabetes presenta un grado variable de obesidad, por lo que un objetivo primordial en estos casos es la reducción de peso.

Este tratamiento debe ser individualizado en cada uno de sus aspectos y adecuado al modo de vida del paciente (ADA, 2001).

4.2.4 Diabetes Mellitus Gestacional

La diabetes mellitus gestacional, es toda diabetes diagnosticada durante el embarazo y se ha estimado que del 3 al 4% de los embarazos están complicados con una Diabetes Mellitus y que el 90% de los casos representan mujeres con Diabetes Mellitus Gestacional (DMG). De manera temprana en el embarazo, la homeostasia de la glucosa

se afecta por los incrementos de los estrógenos y la progesterona que llevan a una hiperplasia de la célula beta y a una secreción aumentada de la insulina. La acción del lactógeno placentario humano es responsable, en parte, de un estado diabetígeno de la embarazada. Con el crecimiento placentario, se sintetiza una gran cantidad de las hormonas contrainsulares. La Diabetes Mellitus Gestacional se define como la intolerancia a los carbohidratos de severidad variable, que se presenta o reconoce por primera vez durante el embarazo. Se realiza clasificación de Diabetes Mellitus Gestacional A-1 cuando existen dos valores alterados de la curva de tolerancia a la glucosa sin incluir la de ayuno y Diabetes Mellitus Gestacional A-2 si existen dos valores alterados de la curva de tolerancia a la glucosa incluyendo hiperglicemia en ayuno. El tratamiento de estas pacientes consiste básicamente en dieta, ejercicio y en caso necesario insulina (ADA, 2001; Forga y Zulet, 2002).

4.3 Descripción de la Estreptozotocina

La estreptozotocina (EZT) [2-deoxi-2-(3-metil-3-nitrosourea) 1-D-glucopiranos] es un antibiótico de amplio espectro, el cual es obtenido de *Streptomyces achromogenes* bacteria gram-positiva. Su fórmula molecular es $C_8H_{15}N_3O_7$ su peso molecular de 265.2206 g/mol (ver figura 1).

La EZT ha sido ampliamente utilizada como un agente antineoplásico y para inducir diabetes experimental en modelos animales por su toxicidad selectiva en las células β del páncreas (Rakieten *et. al.*,1962; Muñiz and Marques ,1989). La respuesta diabetogénica de la EZT fue primeramente descrita por los Laboratorios Upjoin durante las pruebas

como un potencial antibiótico. Sin embargo, fueron Rakieta *et al.* los primeros en describir la necrosis de las células β , seguida de un estado diabético producido por la administración intravenosa de EZT en ratas y perros (Rakieta *et al.*, 1963).

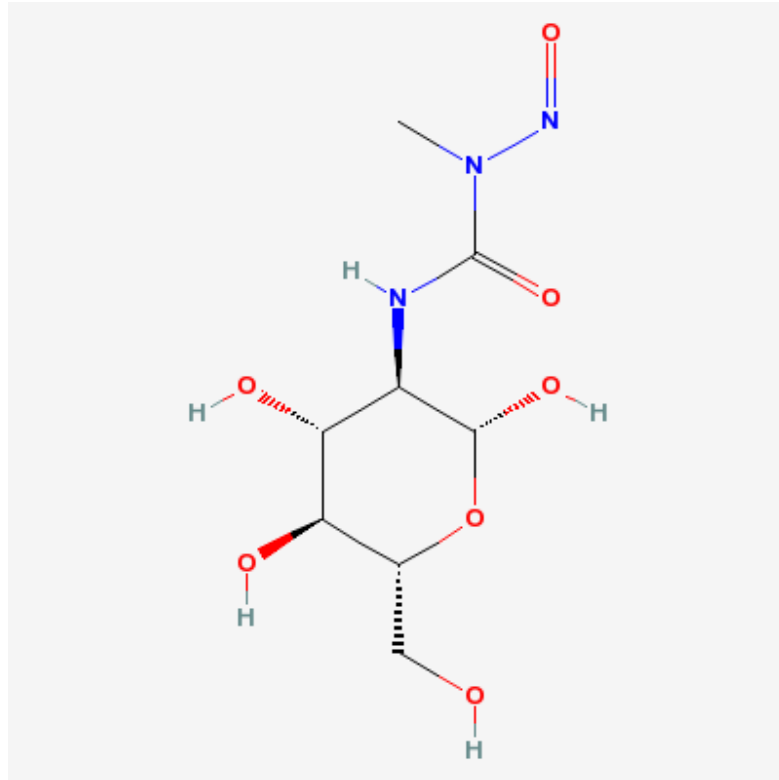


Figura 1. Estructura química de la estreptozotocina

4.3.1 Mecanismo y Efecto Diabetogénico de la EZT

La EZT es un compuesto de color amarillo pálido, contiene un grupo-nitroso el cual actúa como donador del óxido nítrico en los islotes de las células del páncreas. Esta droga causa alquilación del ADN y rompimiento de las células pancreáticas, por lo que está reconocida como agente diabetogénico. La estreptozotocina como las otras

nitrosoureas, actúa como un agente alquilante. La vida media plasmática es breve y el fármaco es excretado en la orina como metabolito. Este fármaco destruye de forma selectiva las células β de los islotes del páncreas y causa diabetes en los animales. No se observa diabetes en el ser humano, pero puede producirse una leve intolerancia a la glucosa como el resultado de su uso.

El principal uso de la EZT es para el tratamiento de los tumores carcinoides, también se ha empleado en combinación para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin y el cáncer de colon, pero su contribución a los efectos observados no está muy bien definida (Cedric y Alan, 1993; Rosenstein, 1993).

4.4 Medicamentos Hipoglucemiantes

Los medicamentos hipoglucemiantes son empleados para reducir la concentración de glucosa en la sangre, existiendo diversos medicamentos que se utilizan con este efecto en los pacientes diabéticos; sin embargo, algunos de estos medicamentos pueden presentar efectos adversos importantes y llegan a producir otros problemas orgánicos en los pacientes que los utilizan.

Existen 5 tipos de estos fármacos:

Sulfonilureas: Se les puede utilizar en combinación con otros medicamentos y sus efectos secundarios son hipoglucemia y aumento de peso.

Biguanidas (metformina): Pueden usarse solas o junto con sulfonilureas, pero siempre combinadas con ejercicio y dieta. No provocan aumento de peso y no son recomendadas para personas con daño renal o problemas cardíacos.

Tiazolinedonas (rosglitazona y pioglitazona): Se pueden consumir con o sin alimentos, tardan de 2 a 6 semanas para lograr su efecto. Se deben usar con cuidado en pacientes con daño renal o problemas cardíacos. Causan náusea y vómito.

Inhibidores de la alfa-glucosidasa (acarbosea y miglitol): Pueden ser utilizadas junto con otros medicamentos, insulina, dieta y ejercicio. Para su mejor efectividad, se les debe tomar cuando se comienza a comer. Los efectos secundarios pueden durar varios meses y son flatulencias, diarrea e inflamación estomacal.

Meglitinidas (repaglinida): Pueden usarse junto con dieta, ejercicio y otros hipoglucemiantes. Es conveniente consumirlas 15 minutos antes de cada comida. Puede provocar hipoglucemias y no deben mezclarse con los inhibidores del alfa-glucosidasa (Cedric y Alan, 1993; Rosenstein, 1993).

4.4.1 La Insulina en la Regulación de la Glucosa

Dentro del páncreas, las células beta producen la hormona insulina. Con cada comida, las células beta liberan insulina para ayudar al organismo a utilizar o almacenar la glucosa sanguínea que obtienen de los alimentos. En las personas que tienen diabetes tipo 1, el páncreas ya no fabrica más insulina. Las células beta han sido destruidas y la persona necesita inyectarse insulina para poder utilizar la glucosa de los alimentos. Las personas con diabetes tipo 2 sí producen insulina, pero el organismo no responde adecuadamente a esa hormona. Algunas personas con diabetes tipo 2 necesitan tomar

medicamentos para la diabetes o inyectarse insulina para ayudar a su organismo a que utilice la glucosa para obtener energía. La insulina no puede administrarse en pastillas porque se destruiría durante la digestión, al igual que las proteínas de los alimentos. La insulina debe inyectarse en la grasa subcutánea para que penetre en la sangre.

Existen muchas clases de insulina para distintas situaciones y estilos de vida y, existen más de 20 tipos de insulina disponibles. Esos tipos de insulina difieren en la forma en que están elaborados, la forma en que actúan dentro del organismo y el precio. La insulina se fabrica en el laboratorio para que sea idéntica a la insulina humana, o bien es de origen animal (porcino). La disponibilidad de la insulina de origen animal en el futuro es incierta.

La insulina de acción rápida, como la insulina lispro (elaborada por Eli Lilly & Company) o la insulina aspart (elaborada por Novo Nordisk), comienza a actuar alrededor de 5 minutos después de aplicar la inyección, su acción máxima se produce aproximadamente a la hora y sigue actuando durante un período de dos a cuatro horas.

La insulina simple o de acción corta (humana) generalmente llega al torrente sanguíneo luego de 30 minutos de haber aplicado la inyección, tiene su hora pico después de transcurridas 2 a 3 horas de la aplicación y es efectiva durante un período aproximado de 3 a 6 horas.

La insulina de acción intermedia (humana) generalmente ingresa en el torrente sanguíneo después de transcurridas 2 a 4 horas de la aplicación de la inyección, alcanza su acción pico después de 4 a 12 horas y es efectiva durante un período de 12 a 18 horas.

La insulina de acción prolongada (ultralenta) llega al torrente sanguíneo después de transcurridas 6 a 10 horas de la aplicación de la inyección y, generalmente, es efectiva durante un período de 20 a 24 horas.

La insulina premezclada puede ser útil para las personas a las que les resulta difícil extraer insulina de dos frascos distintos, y leer las indicaciones y las dosis correctamente. También es útil para aquellos que tienen problemas de visión o de motricidad, y es muy conveniente para aquellos cuya diabetes se ha estabilizado con esa combinación.

Las tres características de los cuatro tipos de insulina disponibles son el comienzo de la acción, la acción máxima o pico y la duración. El comienzo de la acción es el tiempo que tarda la insulina en llegar al torrente sanguíneo y comenzar a reducir los niveles de glucosa en la sangre. La acción máxima (pico) es el momento en el que la insulina alcanza su potencia máxima en lo que respecta a la reducción del nivel de glucosa en la sangre. La duración es el tiempo que la insulina continúa reduciendo el nivel de glucosa en la sangre.

Todas las insulinas vienen en suspensión o disueltas en líquidos. Sin embargo, las soluciones poseen distintas potencias. La potencia que se utiliza más comúnmente en los Estados Unidos en la actualidad es U-100. Eso significa que contiene 100 unidades de insulina por mililitro de líquido. La potencia U-40, que contiene 40 unidades de insulina por mililitro de líquido, no se utiliza en los Estados Unidos, pero aún se sigue utilizando en Europa y Latinoamérica.

Todas las insulinas contienen componentes agregados. Esos componentes impiden que se desarrollen bacterias y ayudan a mantener un equilibrio neutral entre ácidos y bases. Además, las insulinas de acción intermedia y prolongada también contienen sustancias que prolongan su acción. En algunos casos excepcionales, los aditivos pueden provocar una reacción alérgica.

Los tipos de insulina que se utilizan dependen de los niveles de glucosa en la sangre de cada persona. Existen estudios que han demostrado que tres o cuatro inyecciones de insulina por día brindan el mejor control de la glucemia y sirven para prevenir o retrasar daños oculares, renales y nerviosos causados por la diabetes.

Para la mayoría de las personas con diabetes tipo 2, probablemente sea necesaria la aplicación de una inyección por día y no precisen tomar pastillas. Algunas personas posiblemente necesiten una sola inyección de insulina por las noches (a la hora de cenar o antes de irse a dormir) junto con pastillas para la diabetes. Algunas pastillas para controlar la diabetes dejan de causar los efectos deseados; entonces, las personas con diabetes tipo 2 deben comenzar a aplicarse dos inyecciones por día de dos tipos de insulina distintos. Quizá luego aumenten a tres o cuatro inyecciones de insulina por día.

Existen muchos factores que afectan sus niveles de glucosa en la sangre. Entre ellos se incluyen: el tipo de alimentos que come, la cantidad de ejercicio físico que hace y cuándo lo hace, la zona del cuerpo en la que se inyecta la insulina, el momento del día cuando se aplica las inyecciones de insulina, las enfermedades y el estrés (ADA, 2001).

4.5 Plantas Medicinales

A principio de este siglo, el desarrollo de la química y el descubrimiento de complejos procesos de síntesis orgánica desembocaron en la puesta en marcha, por parte de la industria farmacéutica, de una nueva producción de medicamentos a base de plantas medicinales (Baudillo, 1995; Domínguez, 1976).

Es de suma importancia la forma de recolección y conservación de las plantas, ya que las células vegetales, desde el momento de recolección, sufren un cierto número de transformaciones biológicas. Así, al separar la parte aérea de la raíz, se provoca una interrupción del flujo alimenticio y de transpiración. Las enzimas que contiene, y que antes favorecía la formación de materias activas, empiezan ahora a descomponerla. En el organismo vegetal, las anteriores reacciones de síntesis orgánica, comienzan a ser suplantadas por reacciones de degradación, y el producto se transforma desde el punto de vista químico. Estas transformaciones se manifiestan con emisión de olor, modificación de color, etc. Una incorrecta recolección y desecación, aumenta la cantidad de productos de degradación, perdiendo la planta su calidad.

Como producto que son de la naturaleza, las plantas medicinales ejercen todo su poder curativo y preventivo cuando se les utiliza en combinación con otros elementos naturales favorecedores de la salud. Las plantas medicinales no se deberían usar únicamente buscando en ellas una acción curativa, una de sus grandes virtudes es su capacidad para regular los procesos vitales y para prevenir la enfermedad. El uso adecuado de las plantas medicinales, dentro de un conjunto de hábitos de vida sana,

puede evitar que las debilidades de un organismo y la predisposición a padecer ciertas enfermedades evolucionen hasta convertirse en enfermedades declaradas (Pamplona, 1999).

4.6 Características y Taxonomía de las Especies

4.6.1 *Tecoma stans* (L) Juss. ex Kunt. (Tronadora)

Posición taxonómica

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnolipsida
Orden: Lamiales
Familia: Bigoniaceae
Género: *Tecoma*
Especie: *stans*



Figura 2. Ejemplar de la planta *Tecoma stans*

Esta planta perteneciente a la familia de las Bigoniáceas, está ampliamente distribuida en casi toda la República Mexicana (en particular en la región noreste), es un arbusto de 1 a 8 m de altura. Su tallo es liso con ramas comprimidas, las hojas divididas en hojuelas y presenta flores en forma de trompetas agrupadas en racimos. Los frutos son alargados, contienen semillas que al madurar poseen alas. Crece de manera silvestre en Nuevo León y otros estados (ver figura 2). Comúnmente cultivada como planta de ornato, habita en climas secos, cálido y templado, y en la selva tropical caducifolia, subcaducifolia y perennifolia; bosques mesófilo de montaña, de encino y mixto de pino. Se utiliza especialmente para tratar la diabetes, padecimientos digestivos, epiteliales, respiratorios y trastornos ginecológicos.

Las partes más empleadas son las hojas, tallos y ramas, aunque también se usan la corteza, las flores y la raíz. Posee flores amarillas en racimos en forma de campanas (ver figura 1). En México se conoce también con los sinónimos de árbol de San Pedro, Trompetilla o Miñona; se ha reportado que la infusión de las hojas es tomada antes de cada comida para controlar la diabetes. Maximino Martínez la reporta como antidiabética, digestiva, antidisentérica, aperitiva, contra la bilis, diurética, tónica y analgésica. Presenta los alcaloides tecomanina y tecostamina, de los cuales se ha demostrado su acción hipoglicémica (González, 1998; Baudillo, 1995). La actividad farmacológica e hipoglucemiante de esta planta ha sido estudiada ampliamente desde hace varias décadas hasta la actualidad (Hernández *et al.*, 2002; Constantino *et al.*, 2003a,b; Lozoya and Mellado, 1985; Sharma y Vaidyanathan, 1975).

4.6.2 *Eriobotrya japonica* (Níspero)

Posición taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Género:	<i>Eriobotrya</i>
Especie:	<u><i>japonica</i></u>



Figura 3. Ejemplar de la planta *Eriobotrya japonica*

El níspero es el fruto del nísperero, árbol de la familia de las Rosáceas y se emplea también como planta ornamental. Esta familia incluye más de 2000 especies de plantas

herbáceas, arbustos y árboles distribuidos por regiones templadas de todo el mundo. *E. japonica* es un arbusto caducifolio de 2 a 5m de altura, con el tronco tortuoso y la copa abierta. Tiene ramitas jóvenes muy peludas a menudo con espinas. Es de hojas grandes elípticas enteras de color verde brillante por el haz, envés más pálido y veloso. Tiene flores grandes, de 3-4 cm, de color blanco que aparecen entre las hojas. Su fruto es globular (nísperas), con el extremo hundido y rodeado por los largos sépalos persistentes se emplea como fruta ornamental (ver figura 3). Son sólo comestibles cuando están muy maduros y tienen un sabor algo ácido. Se cultiva ampliamente en el Japón, desde donde se ha difundido al sudeste asiático, países mediterráneos y regiones cálidas del continente americano, como los estados de California y Florida. Se adapta bien tanto a regiones subtropicales como a los climas templados.

El níspero es originario del sudeste europeo, pero muy cultivado por sus frutos en oeste y centro de Europa y a menudo crece de manera espontánea en bosques y setos. La madera es dura de grano fino. La corteza tiene propiedades medicinales. En relación con la salud, está documentado que el níspero contiene diversos nutrientes y otras sustancias que le atribuyen efectos benéficos en algunos padecimientos; por ejemplo. La pulpa contenida en el fruto contribuye a reducir las tasas de colesterol y al buen control de la glucemia, por lo que el consumo de nísperos es benéfico en caso de hipercolesterolemia y diabetes.

Los azúcares fructosa y levulosa suponen el 10.4% de la parte comestible. El contenido en grasas y proteínas es mínimo (0.2% y 0.4% respectivamente). La vitamina

A (en forma de provitamina) es la más abundante. Las vitaminas del complejo B, la C y la E están presentes, aunque en pequeñas cantidades. En cuanto a minerales, el níspero aporta cantidades significativas de hierro, calcio y magnesio, aunque el mineral más abundante, es el potasio.

En conjunto, el níspero aporta pocas calorías (47kcal/100 g), pero abundante agua (86.7%) y sales minerales que refuerzan su acción diurética. Es rico en taninos de acción astringente (2.5%), así como en numerosas sustancias aromáticas de tipo triterpénico, de las que dependen sus propiedades antidiabéticas (Pamplona, 2003; Adame y Adame, 2000).

4.7 Características Fitoquímicas de Metabolitos

4.7.1 Saponinas y Sapogeninas

Se le da el nombre de *saponinas* (del latín *sapon* = jabón) a un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta; por lo tanto al sacudir sus soluciones, se forma una espuma abundante, y relativamente estable. Por hidrólisis de las saponinas se obtienen carbohidratos y una aglicona, llamada genéricamente *sapogenina*, la cual puede tener un esqueleto esteroideal (tipo colano) como en la esmilagenina, o de triterpeno tipo β -amirina como en la chichipegénina; tipo α -amirina, como en el ácido asiático; tipo lupeol, como en la estallogenina; o de tipo tetracíclico como en el panaxadiol.

4.7.2 Sesquiterpenlactonas

Las Sesquiterpenlactonas poseen un esqueleto fundamental con 15 átomos de carbono, que teóricamente deriva de la unión de 3 fragmentos de isopreno (2-metil, 1,3-butadieno), cabeza, cola y algunos productos de transposición (Ej. Pseudoguaianólidos); parte del esqueleto es un anillo de metilbutenólido. Por deshidrogenación pueden formar derivados del naftaleno como ocurre con los del tipo eudesmanólido o selenanólido, germacranólido, eremofilanólido y drimanólido (aislado de una *Amaranthacea*) y los del tipo guaianólido y Pseudoguaianólido (ambrosanólido) que forman derivados del azuleno. Las sesquiterpenlactonas se han encontrado principalmente en extractos de flores o partes aéreas de las compuestas, siendo lo suficientemente típicos para tener cierto valor quimiotaxonómico. También se han encontrado en algunas umbelíferas. En algunas de las sesquiterpenlactonas el oxígeno de la lactona se haya en el carbono 8, por ejemplo piretrosina y mexicanina I, con grupos epóxido, acetoxi o carbonilo como parte de la molécula, contribuyendo a incrementar los miembros de este grupo. Algunas sesquiterpenlactonas poseen acción citotóxica, por ejemplo el acetato de euparotina, las psilostachiina gaillardina. Otros son analgésicos o amebicidas (santoninas). Son sustancias amargas, de farmacología poco estudiada, pero provenientes de plantas usualmente reportadas como medicinales, por lo que es probable que sean los agentes medicinales. Se ha sugerido que la actividad citotóxica está relacionada con el grupo exometilenbutenólido y también que este grupo modifica el crecimiento de vegetales. Las características estructurales de las sesquiterpenlactonas presentan algunas modificaciones que contribuyen a comprender su biogénesis, como se observa en la xantinina, xantalina, carabrona y psilostachiina A. Se han escrito

monografías sobre las sesquiterpenlactonas o grupos de ellas, pero los continuos descubrimientos de nuevos compuestos con sutiles pero importantes modificaciones estructurales las hacen obsoletas.

4.7.3 Esteroles y Metilesteroles

Los esteroles son alcoholes sólidos C_{27} a C_{29} , de origen animal (colesterol aunque reportado en algas rojas, coprosterol) o vegetal (fitosteroles β -sitosterol, ergosterol, estigmasterol), cuyo esqueleto fundamental corresponde al ciclopentanoperhidrofenantreno, común a todos los esteroides y una cadena lateral en la que pueden insertarse radicales metilo (serie ergostano) o etilo (serie estigmastano), particularmente en C-24. Cuando los grupos metil se insertan en C-4, como en el lofenol o en C-14 se les denomina metilesteroles. Todos los esteroles tienen un hidroxilo en C-3, los saturados se denominan más apropiadamente estanoles, los insaturados, estenoles.

4.7.4 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos vegetales que poseen un esqueleto carbonado C_6 C_3 C_6 como se encuentra en la flavonona, aurona, chalcona, flavona, flavanonol, flavonol, flavandi-3,4 (leucoantocianidina), antocianidina, catequina, isoflavona y neoflavona. Se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres como glicósidos: estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Las agliconas son más frecuentes en los tejidos leñosos. Hay poco más de 40 C-glicosilflavonoides que también contribuyen a darle color a numerosos vegetales.

Además de los C- glicosilflavonoides, que están por completo eterificados, como la nobiletina y la tangeretina que solo se encuentran como agliconas. Los flavonoides presentan todos los matices de solubilidad, desde totalmente solubles en agua hasta insolubles en ella pero solubles en éter etílico (las agliconas muy eterificadas), pasando por los solubles en etanol (agliconas). Por regla general los flavonoides son insolubles en éter de petróleo, lo que permite desengrasar un material antes de extraerlos.

4.7.5 Coumarinas

Las coumarinas constituyen un grupo importante de compuestos naturales; se les considera derivados de la lactona del ácido o-hidroxicinámico, usualmente llamada coumarina. La mayoría de las coumarinas conocidas, se encuentran libres en las plantas; pero se conocen glicósidos del psoraleno y otras coumarinas. La más abundante es la umbeliferina. Las coumarinas se encuentran con frecuencia en los extractos de leguminosas, *Orchidaceae*, *Rutaceae*, *Umbeliferae* y en cualquiera de los órganos vegetales, desde raíces hasta flores y frutos. Las coumarinas son sustancias fluorescentes, comúnmente fotosensibles. Hay muchas coumarinas con una o varias cadenas de isopreno, como la suberosina, y la colombianetina, o con un anillo de furano (furanocoumarinas). También es común la ortometilación como en la xantiletina en la que se ha formado un anillo de cromano. Se conocen coumarinas con un grupo fenilo en la posición 4, como en la dalbergina, la cual algunos autores consideran como un neoflavonoide. Pese a la abundancia en la naturaleza y a su diversidad estructural, su papel fisiológico solo se conoce parcialmente. Se ha encontrado que pueden ser

anticoagulantes como el dicumarol y la coumarina, espasmolíticas e hipercolesterémicas o inhibidoras del crecimiento vegetal.

4.7.6 Alcaloides

Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases vegetales nitrogenadas, con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales. Con escasas excepciones, por ejemplo efedrina y mezcalina; tienen cuando menos un heterociclo. Hay unos cuantos alcaloides de nitrógeno amídico que son neutros, como la colchicina, ricinina, rutacarpina. Sin considerar la cafeína y la teobromina, las bases púricas y pirimidínicas están excluidas del grupo de alcaloides por carecer de acción fisiológica notable y por sus relaciones bioquímicas con los ácidos nucleicos. Aunque se han encontrado unos 50 alcaloides en órganos animales, solo 12 de éstos no se han localizado en vegetales y por definición se acostumbra excluirlos del grupo. Los alcaloides aparecen en muy diversas familias de plantas, unos 256 en los hongos, algas y otros vegetales inferiores. De las gimnospermas se han aislado unos 115 alcaloides, dentro de las angiospermas, las monocotiledóneas han aportado 488 alcaloides. En tanto que de las dicotiledóneas, se han obtenido unos 3600. La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos como la coniina son líquidos, otros son amarillos como la berberina. La mayoría de los alcaloides se hallan en los vegetales como sales de ácidos orgánicos. En ciertas plantas puede haber un ácido especial asociado a los alcaloides; así, el ácido quínico está unido a los alcaloides de la quina, el ácido mecónico con los del opio y el ácido aconítico con las aconitinas. Algunos alcaloides, como los del *Solanum* y el *Veratrum* se encuentran en forma de glicósidos de la rhamnosa, galactosa

y glucosa. Otros alcaloides se hallan en forma de ésteres de ácidos orgánicos de complejidad variable, por ejemplo, los de los grupos tropano, del senecio y de la yohimbina. Aunque con frecuencia se agrupan los alcaloides de acuerdo con su procedencia botánica; por ejemplo alcaloides de las amarilidáceas, de la ipecacuana, etc. Es más racional clasificarlos de acuerdo con alguno de los 254 tipos estructurales en que se le ha dividido. Se ha tratado de conocer la función de los alcaloides en las plantas y se les ha considerado como productos terminales del metabolismo del nitrógeno, también se les ha asociado con la protección del vegetal. Se han aportado datos que sugieren que algunos alcaloides intervienen en el crecimiento del vegetal, ya sea por su capacidad de formar quelatos o intervenir en fenómenos de óxido-reducción. En lo que concierne a su distribución en la planta, en ocasiones, se hallan restringidos a cierto órgano o a ciertas partes de la planta; a veces se les encuentra en toda la planta. Hay casos en los cuales solo aparecen en alguna etapa del crecimiento o época del año, o en determinadas condiciones ecológicas (Dominguez, 1976, 1979).

4.8 Cromo Como Factor de Tolerancia a la Glucosa

El cromo se considera elemento traza esencial en humanos y animales y tiene una función importante en el metabolismo de la insulina, como factor de tolerancia a la glucosa (FTG). Su deficiencia provoca un deterioro del metabolismo de la glucosa debido a la mala eficiencia de la insulina. Cuando hay deficiencia de este elemento aparecen síntomas parecidos a los ocasionados por la diabetes y enfermedades cardiovasculares. El deterioro de la tolerancia a la glucosa es el primer síntoma de esta deficiencia en animales de experimentación y es posible que sea una de las causas de la

intolerancia a la glucosa en los humanos. La manera en que el ser humano puede obtener este elemento es a través del consumo de alimentos ricos en cromo. Algunos alimentos que pueden proporcionar concentraciones altas de cromo en sangre son los cereales integrales, el brócoli, algunas cervezas y vinos (Anderson, 2000). Desde varios años atrás, múltiples estudios se han realizado para estudiar la función del cromo como factor de tolerancia a la glucosa, usando el picolinato de cromo como tratamiento adjunto para el control de la diabetes mellitus (DM) tipo II (Vinson and Hsiao, 1985, Chowdhury *et al.*, 2003; Brown, 2003).

4.8.1 Cromo, Resistencia a la Insulina e Intolerancia a la Glucosa

La reducida eficiencia de la insulina o la resistencia a la insulina pueden presentarse previo al desarrollo de la diabetes por muchos años y al detectar esta anomalía, es el tiempo clave de la intervención nutricional para prevenir el inicio de la DM tipo 2, teniendo aquí los efectos más significativos. El primer signo detectable de resistencia a la insulina es un aumento en la concentración de la insulina circulante. Como se incrementa la resistencia a la insulina, el cuerpo compensa esta ineficiencia de la función de la insulina con incrementos progresivos en la producción y liberación de insulina por el páncreas. Esto es seguido por aumentos de la glucosa sanguínea. Está bien establecido que los cambios en el estilo de vida incluyendo disminución de peso y ejercicio son efectivos en el incremento de la sensibilidad a la insulina, pero el éxito a largo plazo de estos cambios es usualmente pobre (Anderson, 2000). Cefalu *et al.* presentaron datos mostrando que el cromo mejora la sensibilidad de la insulina en sujetos obesos con una

historia familiar de DM tipo 2 (1000 µg/día como picolinato de cromo) (Cefalu *et al.*, 1999).

4.8.2 Cromo y Diabetes Mellitus Tipo I

Existen algunos estudios que involucran la suplementación de cromo en sujetos con diabetes. La mayoría de los reportes son en diabetes tipo 2, pero hay estudios que involucran cromo y DM tipo 1. La absorción de cromo en personas insulino dependientes o DM tipo 1 es aproximadamente el doble que el control o sujetos con DM tipo 2. La excreción de cromo en orina de sujetos con DM tipo 1 es también más del doble que en sujetos control. Las personas con DM tipo 1 también muestran niveles bajos de cromo en cabello y tejido. Parece ser que los mecanismos de control metabólico de las personas con DM tipo 1 necesitan de cromo adicional, lo cual se refleja por una absorción incrementada, pero el cromo absorbido no parece ser utilizado y es excretado por la orina (Anderson, 2000).

4.8.3 Cromo y Diabetes Mellitus Tipo II

Anderson menciona que en estudios de suplementación con cromo se emplearon 400µg o más de cromo como cloruro de cromo y se reportaron efectos benéficos en personas con DM tipo 2. Algunos estudios no reportan efecto benéfico en la suplementación con cromo, en los cuales se utilizaron 200 µg o menos de cromo suplementado (Anderson, 2000). Por otro lado, en un estudio reportado por Cohn en 1999 en donde se administran 100 µg de picolinato de cromo por día durante seis

semanas a gatos obesos y no obesos, se encontró una respuesta aumentada en la sensibilidad a la insulina (Cohn *et al.*, 1999).

4.8.4 Mecanismos de Acción del Cromo

El mecanismo de acción del cromo en el control de la glucosa sanguínea, es debido a la potenciación de la acción de la insulina. En presencia de cromo en forma utilizable, se requieren niveles mucho más bajos de insulina. El cromo suplementado lleva a incrementar la unión insulina-receptores celulares, debido a que incrementa el número de receptores celulares.

5. MÉTODOS

5.1 Área de Recolección, Colecta e Identificación de la Especie

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Química Analítica, el Bioterio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas; el Laboratorio de Análisis Químico de Alimentos y el Laboratorio de Salud Ambiental del Centro de Investigación de Nutrición y Salud Pública de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El período del estudio comprendió desde junio de 2005 a mayo de 2008.

La colecta de ejemplares de las plantas se realizó durante las estaciones de primavera-verano. Se colectó *Tecoma stans* en los municipios de San Nicolás de los Garza y Rayones, N.L. y *Eriobotrya japonica* en 6 poblaciones de Nuevo León y 8 poblaciones de Oaxaca; se seleccionaron especímenes sanos, maduros y sin daño aparente. Las muestras de los especímenes colectados se colocaron en una prensa botánica y los ejemplares secos de cada una de las plantas se llevaron al Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL para su correcta identificación. Finalmente se optó por estudiar las especies de Rayones, N.L. y Monterrey y área Metropolitana (ver figura 4).



Figura 4. Ubicación del área de estudio

El tamaño de las muestras fue por conveniencia para realizar las pruebas de laboratorio requeridas. El tipo de muestreo fue semiprobabilístico, dado que no se conocía con certeza la planta que se iba a monitorear, pero se sabe que la parte de la planta a muestrear es la hoja.

La recolección de las especies de estudio se realizó en los municipios de Rayones y Monterrey, Nuevo León, México.

Monterrey y la mayor parte de su área metropolitana pertenece a la subprovincia de llanuras y lomeríos, en donde predominan los suelos profundos y de color oscuro. En cuanto a la vegetación predomina el matorral submontano y tiene un clima semiseco extremo. La precipitación pluvial es bastante escasa y las temperaturas promedio

anuales oscilan entre 14°C en enero hasta casi 40°C en agosto. Monterrey y su área metropolitana tiene una superficie de 2,341.78 Km² y una densidad poblacional de 3;022,017 de habitantes (según datos de INEGI con fecha 14 de febrero de 2000). Esta región tiene la siguiente latitud geográfica: Latitud norte 25 grados y 40 minutos, longitud oeste 100 grados y 19 minutos; además tiene una altitud de 540 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2003; Síntesis geográfica de Nuevo León, 1981).

El municipio de Rayones se encuentra situado en la Sierra Madre Oriental y forma parte de la región sur del estado de Nuevo León. Rayones limita al norte con Santiago, al sur con Galeana e Iturbide al oriente con Montemorelos y al poniente con Galeana y Coahuila.

Las coordenadas de la cabecera municipal de Rayones son: latitud norte 25°, longitud oeste 100° 04', mientras que la altitud es de 906 metros sobre el nivel del mar. El municipio de Rayones tiene una extensión territorial de 905.21 kilómetros cuadrados. La Sierra Madre Oriental cubre casi todo su territorio, entre sus cerros destacan el de Mediodía y del Águila. La temperatura media anual de Rayones es de 21° C y la precipitación media anual es de 693 mm, el menos seco de los climas esteparios. Los vientos dominantes son del este.

5.2 Preservación y Transporte

Las plantas fueron recolectadas, preservadas y transportadas de acuerdo a métodos estándar ya establecidos.

5.3 Secado y Molienda de las Especies Vegetales

El material vegetal recolectado se llevó al Laboratorio de Salud Ambiental del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública (CINySP) de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, UANL. Posteriormente se separaron las hojas, se pusieron a secar extendidas sobre periódico a temperatura ambiente y con ventilación durante 10 días. Las hojas secas se machacaron y se colocaron en un molino industrial con tamaño de malla mediano (Thomas-Wiley) (ver figura 5).



Figura 5. Molino industrial

El material seco y molido se guardó en frascos oscuros y fueron rellenos con algodón para disminuir el contenido de oxígeno y así evitar que se oxiden y evaporen los metabolitos activos de las plantas.

5.4 Obtención de Extractos

Para obtener los extractos acuosos de *T. stans* y *E. japonica* se procedió a lo siguiente: Se pesaron 50 gramos de planta seca y molida y se preparó una infusión en agua, se reposó por 20 minutos y se filtró utilizando papel filtro Whatman No. 40 en matraz kitasato y con la ayuda de bomba de vacío (Felisa, FE-150) (ver figura 6). El filtrado obtenido se liofilizó posteriormente.



Figura 6. Filtración de extractos

Para la obtención del extracto hexánico se procedió de la siguiente manera: En un matraz erlenmeyer se colocaron 50 gramos de la planta seca y molida, se agregaron 250 mL de hexano, se tapó el matraz y se colocó en un agitador eléctrico por 48 horas (ver figura 7), se filtró como se explicó anteriormente para el extracto acuoso. Se guardó el

sólido y el sobrenadante se colocó en un vaso de precipitado a 37°C por 3 días y se obtuvo el extracto hexánico, se pesó el rendimiento.

Para la obtención del extracto etanólico se procedió de la siguiente manera: El sólido restante de la planta se colocó en un matraz erlenmeyer con 250 mL de etanol absoluto, se tapó el matraz y se colocó en un agitador eléctrico por 72 horas, se filtró de la misma forma que para el extracto acuoso. Se desechó la parte sólida y el sobrenadante se concentró bajo las mismas condiciones que el extracto hexánico, se obtuvo el extracto etanólico y se pesó el rendimiento.



Figura 7. Planta con solvente en agitador eléctrico

5.4.1 Liofilización del Extracto Acuoso

El extracto acuoso obtenido se colocó en partes iguales en vasos especiales para liofilizadora, se congelaron a -21°C por 12 horas y después a -70°C por 24 horas para posteriormente colocarlos en la liofilizadora (Marca LABCONCO, Freeze Dry System, Freezone 12) a -43°C en un vacío de 250×10^{-3} milibar, durante 4-5 días (ver figura 8). Cuando la muestra estuvo libre de agua, con una consistencia polvosa, se desconectó el equipo y la muestra obtenida se colocó en frascos oscuros pequeños, se pesó el rendimiento y se guardó esta muestra liofilizada para posteriormente realizar las pruebas fitoquímicas.

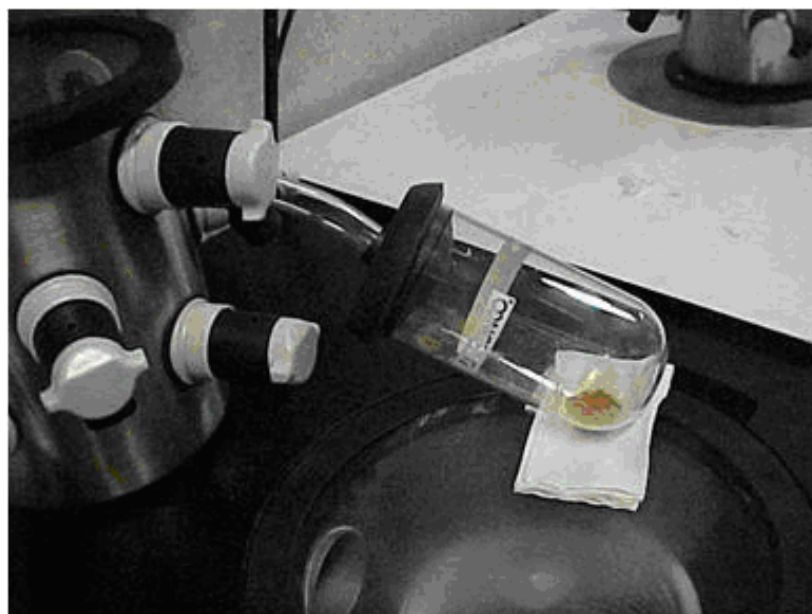


Figura 8. Extracto recién liofilizado

5.5 Realización de Pruebas Fitoquímicas

Se realizaron las pruebas fitoquímicas con reacciones de color para determinar los metabolitos presentes en los extractos acuoso, etanólico y hexánico. Una pequeña porción de cada uno de los extractos fue disuelta en agua, etanol o hexano y de esta mezcla se partió para el análisis fitoquímico, siguiendo los procedimientos reportados por X.A. Domínguez (1979). Para alcaloides se realizó la prueba de Wagner, para coumarinas la prueba del NaOH, para flavonoides la prueba de Shinoda, para sesquiterpenlactonas la prueba de Baljet, para esteroides, metilesteroides y saponinas la prueba de Liebermann-Burchard, para azúcares la prueba de Molish, para quinonas la prueba de Böntrager y para insaturaciones la prueba de KMnO_4 (ver figura 9).



Figura 9. Pruebas fitoquímicas con reacciones de color

5.6 Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Se realizó la identificación de alcaloides para *T. stans* y sustancias terpénicas para *E. japonica* en cromatografía en capa fina (CCF). Para las pruebas cromatográficas se

utilizó como fase estacionaria sílica gel 60G (MERCK), sobre placas de vidrio, las cuales fueron activadas en una estufa a 120 °C durante una hora. Con ayuda de capilares preparados para cromatografía (disminuyendo al mínimo el diámetro de uno de los extremos con calor), se colocó una porción del extracto aproximadamente a un centímetro de la parte inferior, se dejó evaporar el solvente, se colocó una segunda porción del extracto. Posteriormente se efectuó el corrimiento cromatográfico en una pequeña cámara de vidrio (la cual puede ser un vaso de precipitado) con la mezcla de solventes seleccionados, cuidando siempre que el nivel del solvente quede abajo del punto de aplicación de la muestra (ver figura 10). La cromatografía está completa antes de que el corrimiento del eluyente llegue a la parte superior de la placa. De esta manera se puede calcular la relación de frente (Rf).

Donde $R_f = a/b$ $a =$ distancia recorrida por los componentes presentes en la muestra
 $b =$ distancia total recorrida por el eluyente



Figura 10. Cromatografía en capa fina en corrimiento

Posteriormente se realizó la revelación de las placas cromatográficas. Primero se reveló con luz ultravioleta para conocer el número y color de bandas obtenidas. Posteriormente se reveló la CCF de extractos de *T. stans* para alcaloides con el reactivo de Dragendorff (ver figura 11) y los extractos de *E. japonica* para sustancias terpénicas con ácido sulfúrico y calor

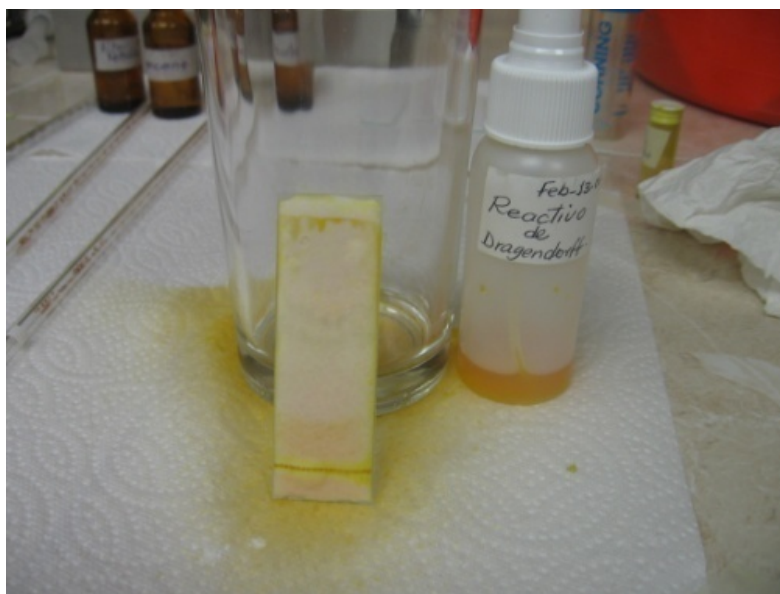


Figura 11. Revelado de cromatografía para alcaloides

5.7 Determinación del Cromo

El cromo se determinó en 100 gramos de la planta seca y molida por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (Perkin-Elmer, 5100) en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina, UANL., siguiendo el procedimiento marcado por la norma oficial NMX-AA-051-SCFI-2001 (ver figura 12).



Figura 12. Espectrofotómetro de Absorción atómica

5.8 Animales Estudiados

Se utilizaron ratas jóvenes de la raza Sprague.-Dawley del sexo masculino, de aproximadamente 8 semanas (ver figura 13). Los sujetos de estudio fueron proporcionados por el Bioterio del Depto. de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.



Figura 13. Animal en estudio en jaula metabólica

5.9 Determinación de la Dosis Óptima del Hiperglucemiante (EZT)

Para la inducción de la diabetes se prepararon 4 grupos de 5 animales cada uno. Primero se pesaron inmovilizando al animal y utilizando una balanza granataria (OHAUS) (ver figura 14).



Figura 14. Monitoreo de peso

Para determinar la dosis óptima del hiperglucemiante se utilizó estreptozotocina (EZT) (Sigma). Se pesaron en viales estériles 25, 35 y 45 mg de EZT/kg de peso, se llevó a la campana de flujo laminar para mantener las condiciones de esterilidad se disolvió en agua bidestilada estéril. Estas dosis se esterilizaron haciéndolas pasar a través de membranas estériles con tamaño de poro de 0.45μ (Millex, MILLIPORE, USA) hacia viales oscuros estériles (ver figura 15).

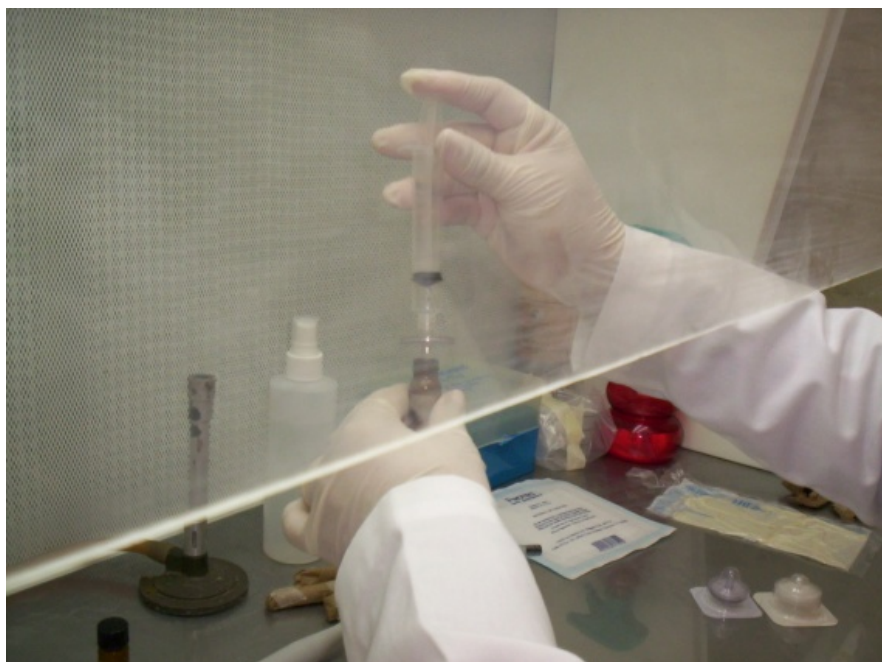


Figura 15. Preparación del hiperglucemiante (EZT)

Inmediatamente después de la preparación de las diferentes concentraciones de EZT, se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) a cada uno de los animales del grupo correspondiente, utilizando un volumen de 0.5 mL y jeringas para insulina estériles de plástico (Becton-Dickinson). El grupo control recibió únicamente agua bidestilada estéril por la misma vía (ver figuras 16 y 17).



Figura 16. Manipulación del animal



Figura 17. Inoculación intraperitoneal de EZT

Posteriormente se monitoreó el peso y nivel de glucosa sanguínea en los animales a los 7, 15, 30 y 45 días hasta alcanzar una diabetes moderada (170-300 mg de glucosa/dL).

5.10 Producción Experimental de Modelos Diabéticos

Después de determinar la dosis óptima diabetogénica de EZT, se procedió a preparar modelos diabéticos utilizando una dosis de 45 mg/kg de peso de EZT (preparada como se explicó anteriormente). Se administró bajo las mismas condiciones anteriores por vía i.p. a 20 animales 45 mg/kg de peso de EZT y un grupo control de animales recibió vía i.p. agua bidestilada estéril. Se monitoreó el peso y nivel de glucosa sanguínea en los animales a los 7, 15, 30 y 45 días hasta alcanzar una diabetes moderada (170-300 mg de glucosa/dL). Los animales que se encontraban en este rango de concentración de glucosa, se colocaban en jaulas metabólicas individuales (NALGENE, 650-0100, Tamaño M de Nalge Company Rochester, New York, U.S.A) (ver figura 18). Se les administró alimento especial para roedores en una cantidad aproximada de 25 gramos diarios y agua a libre demanda en bebederos de chupete. Se procedió a probar las dosis de las plantas en estudio.



Figura 18. Jaulas metabólicas

5.11 Determinación de la Dosis de la Planta para Disminuir la Hiperglucemia

Con los modelos de animales con diabetes moderada, se procedió a la identificación la dosis de infusión de las plantas estudiadas a la cual se presentó reducción de la hiperglucemia, utilizando en forma progresiva 0.6, 1.6, 5 y 25 g/L de infusión acuosa de *T. stans* y 10, 20, 30 y 40g/L de *E. japonica* y monitoreando el nivel de glucosa a las 48 horas y 7 días después de administrar las diferentes dosis de las plantas. Se continuaron los tratamientos con 25 g/L de *T. stans* y 40 g/L de *E. japonica* y se monitoreó el nivel de glucosa sanguínea por 14, 21 y 28 días.

5.12 Determinación de Glucosa Sanguínea

Para la glucosa sanguínea se tuvo un ayuno de 4-5 horas en cada uno de los animales. Esta determinación se realizó a las 48 horas, 7, 14, 21 y 28 días durante la determinación de la dosis óptima del hiperglucemiante y determinación de la dosis de la planta para disminuir la hiperglucemia. En la producción experimental de modelos diabéticos y durante el experimento para determinar el efecto hipoglucemiante de las plantas, la determinación de glucosa sanguínea se realizó a los 7,15, 30 y 45 días; utilizando un glucómetro manual (ACCUTREND® de Laboratorios Roche), el cual utiliza el micrométodo de glucosa oxidasa. Para realizar la determinación, primero con la ayuda de un médico veterinario, se tomó al animal, se identificó la vena caudal de la cola del mismo, se realizó asepsia con una torunda impregnada en alcohol etílico de 96°. Con una lanceta estéril se hizo una incisión en la vena caudal de la cola del animal y una gota de sangre fue colectada sobre una tirilla reactiva especial, la cual inmediatamente se introdujo en el glucómetro arriba mencionado y en aproximadamente 40 segundos se podía leer la concentración de glucosa (ver figuras 19 y 20).



Figura 19. Sangrado de la vena caudal de la cola de animal



Figura 20. Determinación de glucosa sanguínea

5.13 Preparación de la Dosis de Picolinato de Cromo

El cromo se administró en su forma de sal conocida como picolinato de cromo (BNS-Biox Nutrition System). La dosis diaria recomendada para una persona adulta oscila entre 50-200 μg (U. S. National Library of Medicine). La dosis diaria utilizada en los animales del experimento fue la equivalente a 200 μg para los tratamientos con *T. stans*. Para los tratamientos con *E. japonica* se utilizó una dosis de picolinato de cromo de 100 μg . El peso promedio de las ratas fue de 250 gramos (0.25 kg). Tomando como base un peso de 60 kg para una persona adulta, a cada animal le correspondieron 0.833 $\mu\text{g}/\text{día}$ para los tratamientos con *T. stans* y 0.416 $\mu\text{g}/\text{día}$ para los tratamientos con *E. japonica*. Para lo cual se preparó un stock de picolinato de cromo de 200 mg/L y por medio de diluciones se preparó una solución estándar de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. De esta solución estándar se colocó 0.5 mL (*T. stans*) y 0.250 mL (*E. japonica*) a cada biberón de las jaulas metabólicas, y se agregaron 30 mL de agua corriente, que era la cantidad diaria promedio de agua que ingería cada animal.

5.14 Planteamiento Experimental

Para los tratamientos con *T. stans* se utilizaron 30 g/L y para *E. japonica* se utilizaron 40 g/L en infusión acuosa.

Para conocer el efecto antidiabético de *T. stans* y *E. japonica* se utilizaron para el bioensayo de cada planta 24 animales de laboratorio, de los cuales a 12 se les indujo la diabetes, de tal forma que se tuvieron 8 grupos (n=3): animales diabéticos y no diabéticos:

- *Grupo diabético (n=3): agua
- *Grupo diabético (n=3): infusión de la planta
- *Grupo diabético (n=3): picolinato de cromo
- *Grupo diabético (n=3): picolinato de cromo más infusión
- *Grupo no diabético (n=3): agua
- *Grupo no diabético (n=3): infusión de la planta
- *Grupo no diabético (n=3): picolinato de cromo
- *Grupo no diabético (n=3): picolinato de cromo más infusión

La vía de administración fue oral en todos los casos.

Cada uno de los animales en tratamiento se colocó en jaulas metabólicas individuales, las cuales tienen contenedores para colectar la orina y las heces fecales, evitando así la contaminación de estos desechos. Asimismo cada jaula tiene contenedores para depositar el alimento de los animales y bebederos de chupete para agua y/o los diferentes tratamientos. Tanto los contenedores como los bebederos están graduados volumétricamente.

A estos animales se les realizó seguimiento de peso, niveles de glucosa sanguínea y urinaria; así como se observó el comportamiento renal, hepático y equilibrio ácido-básico.

5.15 Determinación de Glucosa Urinaria, Comportamiento Hepático, Renal y Equilibrio Ácido-básico

Esta determinación se realizó a los 7, 15, 30 y 45 días después de administrar los diferentes tratamientos, con la finalidad de conocer el metabolismo de los hidratos de carbono (glucosa), del funcionamiento del hígado, del riñón y del equilibrio ácido-base. Para la determinación de la glucosa urinaria se tuvo un ayuno previo de 7 horas, se colectó orina de los animales de estudio por medio de contenedores especiales adaptados en las jaulas metabólicas para evitar que la orina se contamine con las heces fecales del animal. Se utilizaron tirillas reactivas especiales para uroanálisis las cuales miden un total de 10 indicadores: Densidad, pH, leucocitos, nitritos, proteínas, glucosa, cetonas, urobilinógeno, bilirrubina y sangre en orina. Cada tirilla reactiva se introdujo en el contenedor correspondiente conteniendo la orina, una vez impregnadas las tirillas, se retiraron inmediatamente para evitar que se mezclen los reactivos entre si, se colocaron en forma horizontal sobre papel absorbente para retirar exceso de orina y se compararon los colores de cada una de las tirillas con los colores impresos en la etiqueta del frasco, tomando la lectura de cada indicador en un lapso menor a 2 minutos.

5.16 Análisis de Datos

Para este análisis se consideró como variable el nivel de glucosa en sangre (mg/dL) y se analizaron diferentes tipos de tratamientos. Para comparar los tratamientos, los resultados de los mismos se sometieron al modelo estadístico llamado ANOVA de una sola vía, en donde se establece si alguno de los tratamientos administrados es diferente.

Básicamente el análisis de varianza (ANOVA) nos permitirá comprobar si la significancia de diferencias entre medias de los tratamientos son o no debidas al azar, siendo la cifra estadística obtenida para esta significancia la razón “F”.

Además se utilizó la prueba de Tukey, con ésta se puede encontrar cual tratamiento administrado es diferente; de rechazarse la hipótesis de igualdad en el análisis de varianza (Daniel, 1996).

6. RESULTADOS

6.1 Rendimiento de los Extractos

En la planta de *T. stans* el rendimiento del extracto acuoso fue de 16.35 g (32.7%), 2.1 g (4.2%) para el hexánico y 6.27 g (12.5%) para el etanólico. Para *E. japonica* el rendimiento fue 10.9 g (21.8%) para el extracto acuoso, 0.9 g (1.8%) para el hexánico y 2.8 g (5.6%) para el extracto etanólico.

6.2 Pruebas Fitoquímicas

Tecoma stans:

En el extracto acuoso se encontraron alcaloides, coumarinas, flavonoides, sesquiterpenlactonas, azúcares e insaturaciones. En el extracto etanólico se encontraron alcaloides, coumarinas, flavonoides, sesquiterpenlactonas, esteroides, metilesteroides, saponinas, quinonas e insaturaciones. En el extracto hexánico se encontraron alcaloides, coumarinas, flavonoides, sesquiterpenlactonas, esteroides, metilesteroides y saponinas.

Eriobotrya japonica:

En el extracto acuoso se encontraron sesquiterpenlactonas, esteroides, metilesteroides y quinonas. En el extracto etanólico se encontraron coumarinas, sesquiterpenlactonas,

esteroles, metilesteroles e insaturaciones. En el extracto hexánico se encontraron alcaloides, coumarinas, flavonoides, sesquiterpenlactonas, esteroles, metilesteroles, saponinas, quinonas e insaturaciones.

En los 3 extractos de *T. stans* se encontró presencia de: alcaloides, coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas. En los 3 extractos de *E. japonica* se encontraron sesquiterpenlactonas, esteroles y metilesteroles. La tabla 1 muestra estos resultados del análisis fitoquímico en los extractos de las hojas de *T. stans* y *E. japonica*.

Tabla 1

Análisis fitoquímico en los extractos de las hojas de *T. stans* y *E. japonica*.

Componentes	Prueba	E x t r a c t o s					
		Acuoso		Etanólico		Hexánico	
		<i>T. stans</i>	<i>E. japonica</i>	<i>T. stans</i>	<i>E. japonica</i>	<i>T. stans</i>	<i>E. japonica</i>
Alcaloides	Wagner	+	-	+	-	+	+
Coumarinas	NaOH	+	-	+	+	+	+
Flavonoides	Shinoda	+	-	+	-	+	+
Sesquiterpenlactonas	Baljet	+	+	+	+	+	+
Esteroles y metilesteroles	Liebermann-Burchard	-	+	+	+	+	+
Azúcares	Molish	+	-	-	-	-	+
Saponinas	Liebermann-Burchard	-	-	+	-	+	-
Quinonas	Borntrager	-	+	+	-	-	+
Insaturaciones	KMnO ₄	+	-	+	+	-	+

6.3 Cromatografía en Capa Fina

Para *T. stans* el eluyente que mostró mejor separación de bandas para el extracto acuoso fue cloroformo:metanol:ácido acético (65:35:10), para el extracto etanólico cloroformo:metanol:agua (65:35:10) y para el extracto hexánico fue éter de petróleo:benceno:acetona (9:9:2). Para los 3 extractos de *E. japonica* se utilizó eluyente éter etílico:cloroformo (1:4). Las cromatografías de los extractos de ambas plantas se revelaron primero con luz ultravioleta para conocer el color, no. de bandas y así calcular la relación de frente (Rf). Estos eluentes fueron utilizados en la cromatografía para realizar la identificación de alcaloides para los extractos de *T. stans* revelando la misma con reactivo de Dragendorff. Las cromatografías de los extractos de *E. japonica* se revelaron con ácido sulfúrico y calor. En la tabla 2 se observa el tipo de eluyente utilizado en cada extracto, así como el número, color de bandas y relación de frente al revelar con luz ultravioleta.

Tabla 2
Cromatografía de extractos de *T. stans* y *E. japonica* y revelación de alcaloides y sustancias terpénicas.

Extracto	Eluente		*No. de bandas (UV) y **RF		Resultado para alcaloides y sustancias terpénicas (Dragendorff / H ₂ SO ₄ -calor)	
	<i>T. stans</i>	<i>E. japonica</i>	<i>T. stans</i>	<i>E. japonica</i>	<i>T. stans</i>	<i>E. japonica</i>
Acuoso	Cloroformo:Me- tanol:Ácido acético (65:35:10)	Éter etílico: Cloroformo (1:4)	1 0.55 2 0.75 3 0.85	1 0.21	Positivo	Positivo
Etanólico	Cloroformo:Me- tanol:Agua (65:35:10)	Éter etílico: Cloroformo (1:4)	1 0.31 2 0.56 3 0.88 4 0.95	1 0.14 2 0.28 3 0.89	Positivo	Positivo
Hexánico	Eter de petróleo: benceno:Aceto- na (9:9:2)	Éter etílico: Cloroformo (1:4)	1 0.13 2 0.38 3 0.48 4 0.63	1 0.14 2 0.48 3 0.73 4 0.89	Positivo	Positivo

*Bandas obtenidas al revelar con luz ultravioleta

**Relación de frente

En *T. stans* se encontró la presencia de 3, 4 y 4 bandas en los extractos acuoso, etanólico y hexánico respectivamente y al revelar con Dragendorff dio positivo para alcaloides en los 3 extractos. Para *E. japonica* se obtuvieron 1,3 y 4 bandas y al revelar con ácido sulfúrico-calor dio positivo para sustancias terpénicas.

6.4 Concentración de Cromo en Plantas

Se encontró cromo en *T. stans* en una concentración de 54 µg/100g y 279 µg/100g en *E. japonica*.

6.5 Obtención de Dosis Óptima de EZT

Al realizar el bioensayo para encontrar la dosis óptima del hiperglucemiante (EZT) se obtuvo un peso promedio basal en las ratas de 243 ± 21.8 gramos, con una concentración promedio basal de glucosa de 63.8 ± 10.9 mg/dL. Se realizó el seguimiento del nivel de glucosa a los 7, 15, 30 y 45 días, sin encontrar hiperglucemia durante este periodo de tiempo. La tabla 3 muestra los valores promedio de peso y concentración de glucosa durante el seguimiento de estos parámetros. Para el grupo I se utilizó una concentración de EZT de 25 mg/kg de peso, para el grupo II 35 mg/kg, para el grupo III 45 mg/kg y el grupo IV fue el grupo control, el cual recibió solo agua destilada estéril. La vía de administración fue peritoneal para todos los grupos.

Tabla 3

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley en seguimiento por 45 días después de administrar las dosis de 25, 35 y 45 mg de EZT.

Grupo	Conc. de EZT	T		i		m		p		o	
		7 días	15 días	30 días	45 días	7 días	15 días	30 días	45 días		
I	25 mg/kg	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
II	35 mg/kg	256.9	78.3	244.5	62.0	256.0	59.5	290	64	244.6	75.3
III	45 mg/kg	244.6	75.3	246.2	62.7	253.3	61.0	305	64	238.0	95.0
IV	Agua	238.0	95.0	232.0	70.3	244.6	72.3	288.3	63.3	236.5	96.6
**control		236.5	96.6	225.7	71.3	223.3	51.3	277.3	76.6		

*El peso promedio basal fue de 243 ± 21.8 g y la concentración de glucosa promedio basal fue de 63.8 ± 10.9 mg/dL.

**El grupo control recibió agua bidestilada estéril por vía intraperitoneal; n=3

Después de administrar el EZT, el peso promedio osciló entre 277 y 305 gramos y la concentración promedio de glucosa osciló entre 63 y 77 mg/dL durante 45 días. A los

45 días después de administrada la primera dosis, se procedió a aplicar una segunda dosis (45 mg/kg de peso) y con esta segunda dosis se obtuvo hiperglucemia en una concentración de glucosa sanguínea de 265 mg/dL a los 7 días después de administrada. En la tabla 4 se observan los valores promedio de peso y concentración de glucosa a los 7 días después de administrada la segunda dosis.

Tabla 4

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley en seguimiento por 7 días después de administrada la segunda dosis de 25, 35 y 45 mg de EZT.

Grupo	Concentración de EZT	T i e m p o	
		7 días	
		Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
I	25 mg/kg	312.3	97
II	35 mg/kg	316.3	80.6
III	45 mg/kg	295.3	265
IV **control	Agua	286.6	63.3

**El grupo control recibió agua bidestilada estéril por vía intraperitoneal; n=3

6.6 Dosis de Plantas para Reducir la Hiperglucemia

Al probar dosis progresivas, se encontró que con 25 g/L de *T. stans* y 40 g/L de *E. japonica* se observó una disminución del 10 % y 13.1 % de la hiperglucemia a los 7 días de tratamiento, respectivamente. Se continuó administrando esta misma dosis de infusión y se obtuvo una reducción de hiperglucemia del 37% y 18.8%, respectivamente a los 28 días de tratamiento. Las tablas 5 a la 8 muestran los resultados antes descritos.

Tabla 5

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar las diferentes dosis de *T. stans*.

		T i e m p o			
		48 horas		7 días	
Dosis de <i>T. stans</i>	Grupo	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
0.6 g/L	Diabético	286	269.6	290.5	284.3
	Control	294.6	77	302.1	60.5
1.6 g/L	Diabético	293.6	301.6	296.1	307.3
	Control	306	69.3	309.5	63.7
5 g/L	Diabético	297	279.0	278.5	292.0
	Control	313.3	69.6	302.1	68.3
25 g/L	Diabético	284.6	276.0	279.0	248.0
	Control	305.3	72.4	309.0	68.4

n=3

Tabla 6

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar 25 g/L de la infusión de *T. stans*.

n=3

Tabla 7

Grupo	T i e m p o					
	14 días		21 días		28 días	
	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
Diabético	236.1	212.0	235.0	194.0	238.0	173.0
Control	313.0	66.3	321.0	69.2	353.8	64.6

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar las diferentes dosis de *E. japonica*.

n=3

Tabla 8

Dosis de <i>E. japonica</i>	Grupo	T i e m p o			
		48 horas		7 días	
		Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
10 g/L	Diabético	188.0	234.0	184.0	259.0
	Control	203.3	64.0	213.0.1	60.7
20 g/L	Diabético	172.0	237.0	174.0	224.0
	Control	218.0	67.3	226.5	63.9
30 g/L	Diabético	217.3	215.0	228.5	212.0
	Control	229.0	60.7	232.0.1	67.3
40 g/L	Diabético	222.7	208.7	229.0	198.7
	Control	235.3	62.4	249.0	66.4

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague-Dawley diabéticas y grupo control en seguimiento después de administrar 40 g/L de la infusión de *E. japonica*.

Grupo	T i e m p o					
	14 días		21 días		28 días	
	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
Diabético	201.7	172.7	186.2	165.5	181.9	161.3
Control	225.0	64.0	232.0	67.6	232.0	67.8

n=3

6.7 Evaluación del Efecto Antidiabético de las Plantas en Estudio

En el bioensayo se utilizó una concentración de la infusión de *T. stans* de 30 g/L y de 40 g/L para *E. japonica*. En los grupos de animales diabéticos se encontró que a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos, en el grupo de animales diabéticos que recibió la infusión de *T. stans* se redujo un 33.5% la hiperglucemia, en el grupo tratado con 200 µg de picolinato de cromo un 10.1% y la mezcla de *T. stans* con picolinato de cromo redujo un 32.3%. Con respecto a los resultados con *E. japonica* se encontró que en el grupo de animales diabéticos que recibió la infusión de *E. japonica* se redujo un 18.8% la hiperglucemia, en el grupo tratado con 100 µg de picolinato de cromo un 13.7% y la mezcla de *E. japonica* con picolinato de cromo redujo un 19.1%.

Al comparar los diferentes tratamientos para ambas plantas, por el modelo estadístico ANOVA y la prueba de Tukey encontramos que existe una diferencia estadísticamente significativa a los 45 días de tratamiento con respecto al grupo control

($F=8.76$, $p=0.006$ para *T. stans* y $F=10.7$, $p=0.003$ para *E. japonica*) (ver figuras 21 y 23 y tablas 9 y 11).

Mientras que al aplicar los tratamientos en los grupos de animales no diabéticos no se presentaron cambios en cuanto a la concentración de glucosa, los niveles promedio de este indicador oscilaron entre 67.0 y 82.0 mg/dL y entre 65.0 y 90.0 mg/dL para los tratamientos con *T. stans* y *E. japonica*, respectivamente. Las tablas 9 a la 12 y las figuras 21 a la 24 muestran estos valores promedio de peso y glucosa en los grupos de animales diabéticos y no diabéticos al administrar los diferentes tratamientos.

Tabla 9

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Tratamiento	T i e m p o		7 días		15 días		30 días		45 días	
	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
<i>T. stans</i>	238.8	265.0	230.0	259.0	245.5	216.3	242.7	176.0		
Picolinato de cromo	256.3	161.3	235.0	178.3	250.8	166.7	253.3	144.7		
<i>T. stans</i> + Picolinato de cromo	188.7	242.3	201.0	229.3	193.3	187.0	198.5	164.0		
Control (agua)	252.3	275.7	235.0	293.7	255.7	319.3	252.7	323.4		

n=3

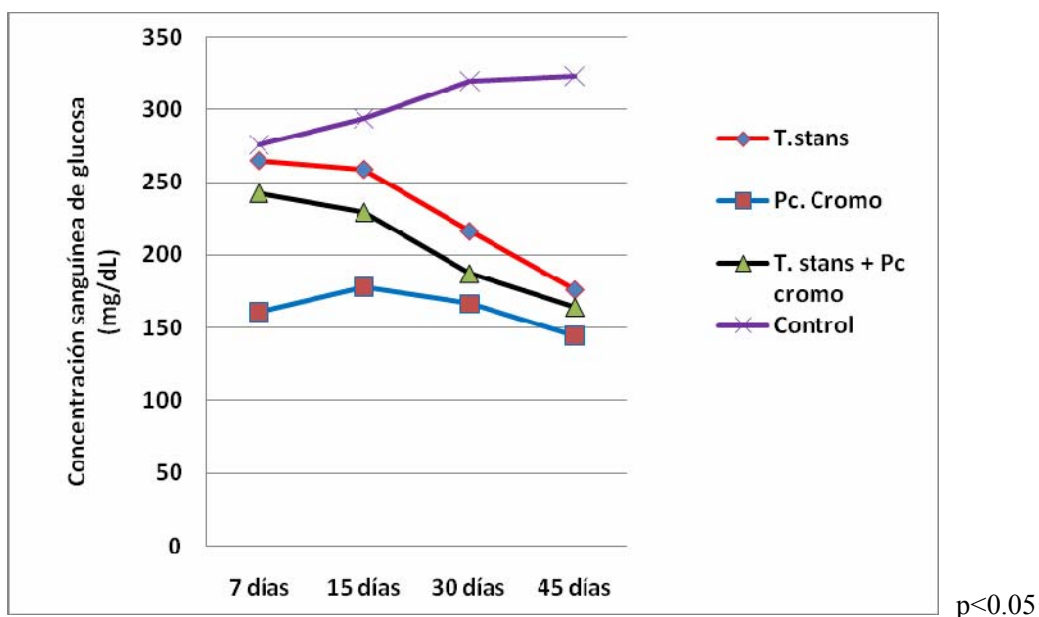


Figura 21. Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea en animales diabéticos durante el tiempo de tratamiento con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Tabla 10

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley no diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Tratamiento	T i e m p o							
	7 días		14 días		30 días		45 días	
	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
<i>T. stans</i>	178.0	71.7	207.3	67.0	213.5	72.5	228.0	76.9
Picolinato de cromo	180.0	71.0	198.3	70.7	204.6	81.0	215.8	82.0
<i>T. stans</i> + Picolinato de cromo	164.3	73.3	193.0	72.0	198.5	78.6	216.0	77.5
Control (agua)	173.3	72.7	202.7	76.3	218.3	72.4	234.5	79.8

n=

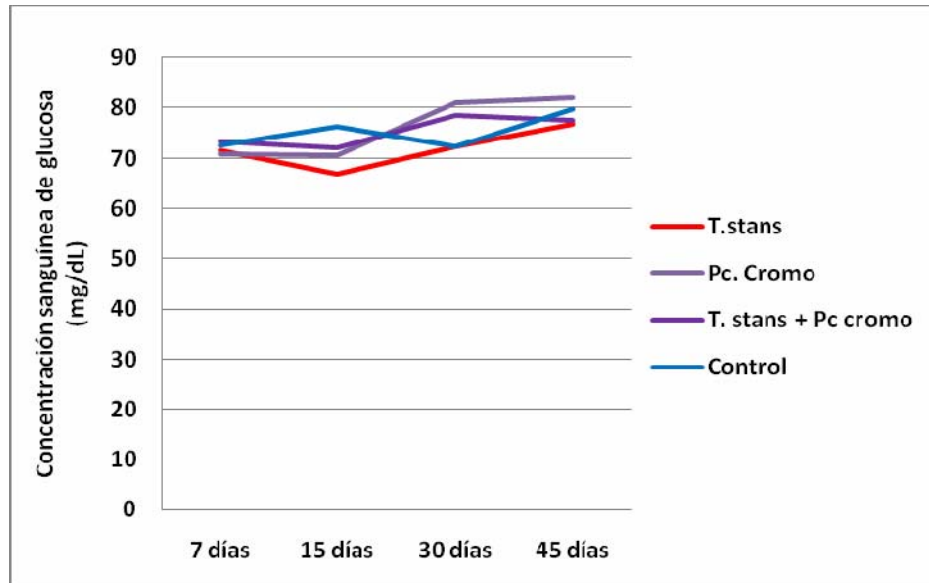


Figura 22. Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea en animales no diabéticos durante el tiempo de tratamiento con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Tabla 11

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

Tratamiento	T i e m p o		7 días		15 días		30 días		45 días	
	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
<i>E. japonica</i>	222.7	198.7	201.7	172.7	186.2	165.5	181.9	161.3		
Picolinato de cromo	232.3	148.7	241.0	142.7	249.7	133.6	260.7	128.3		
<i>E. japonica</i> + Picolinato de cromo	268.0	221.3	243.7	212.3	209.0	187.0	176.0	179.0		
Control (agua)	213.7	257.0	242.3	290.3	242.0	302.3	224.3	313.3		

n=3

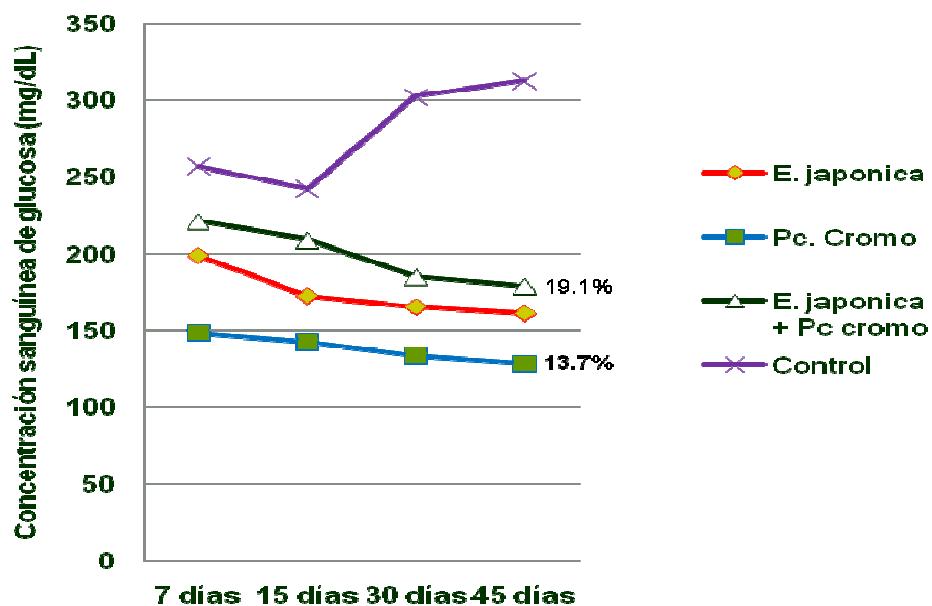


Figura 23. Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea en animales diabéticos durante el tiempo de tratamiento con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo, ($p < 0.05$).

Tabla 12

Peso y concentración de glucosa sanguínea en ratas Sprague- Dawley no diabéticas en seguimiento después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

Tratamiento	T i e m p o		7 días		15 días		30 días		45 días	
	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)	Peso (g)	Glucosa (mg/dL)
<i>E. japonica</i>	175.3	89.0	194.5	85.6	176.3	80.0	179.7	80.0		
Picolinato de cromo	204.3	91.0	199.6	84.6	177.0	72.3	182.0	73.7		
<i>E. japonica</i> + Picolinato de cromo	160.6	86.3	187.6	82.3	166.0	80.6	172.0	80.7		
Control (agua)	212.3	72.3	225.0	64.0	227.3	72.0	232.0	67.6		

n=3

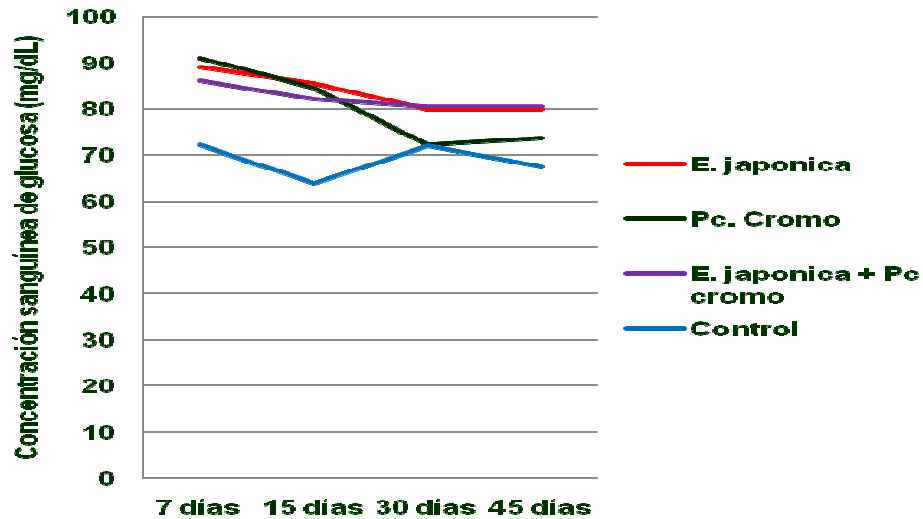


Figura 24. Comportamiento de la concentración de glucosa sanguínea en animales no diabéticos durante el tiempo de tratamiento con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

6.8 Resultados del Uroanálisis

Al realizar el uroanálisis en los grupos de animales diabéticos a los 7 días de tratamiento se encontró lo siguiente:

Para *T. stans*:

Grupo tratado con infusión de *T. stans*: Se encontró presencia de nitritos, proteínas y glucosa.

Grupo tratado con picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos y proteínas.

Grupo tratado con la mezcla de infusión de *T. stans* y picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, proteínas y glucosa.

Grupo control diabético: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, proteínas y glucosa.

Para *E. japonica*:

Grupo tratado con infusión de *E. japonica*: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, nitritos, proteínas, cetonas, bilirrubina y glucosa.

Grupo tratado con de picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, nitritos, proteínas y glucosa.

Grupo tratado con la mezcla de infusión de *E. japonica* y picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos y proteínas.

Grupo control diabético: Se encontró presencia trazas de leucocitos, nitritos, proteínas y glucosa.

Al realizar el uroanálisis en los grupos de animales diabéticos a los 45 días de tratamiento se encontró lo siguiente:

Para *T. stans*:

Grupo tratado con infusión de *T. stans*: Se encontró trazas de leucocitos, nitritos, proteínas y glucosa.

Grupo tratado con picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos y proteínas.

Grupo tratado con la mezcla de infusión de *T. stans* y picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos y proteínas.

Grupo control diabético: Se encontró presencia trazas de leucocitos, nitritos, proteínas, cetonas y glucosa.

Para *E. japonica*:

Grupo tratado con infusión de *E. japonica*: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, nitritos, proteínas y glucosa.

Grupo tratado con picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, nitritos y proteínas.

Grupo tratado con la mezcla de infusión de *E. japonica* y picolinato de cromo: Se encontró presencia de trazas de leucocitos, nitritos y proteínas.

Grupo control diabético: Se encontró presencia trazas de leucocitos, nitritos, proteínas, sangre y glucosa.

En los grupos no diabéticos no se obtuvieron valores anormales de estos indicadores.

Las tablas 13 a la 16 y de la 17 a la 20 en apéndice muestran los resultados antes descritos.

Tabla 13

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Indicador	basal (n=20)	<i>T. stans</i> (n=3)	Picolinato de cromo (n=3)	<i>T. stans</i> y picolinato de cromo (n=3)	Control diabético (n=3)
Leucocitos	-	-	Trazas	Trazas	Trazas
Nitritos	-	+	-	-	-
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	-	+++	++++	+++	+++
pH	7.0	8.0	8.0	7.5	7.25
Sangre	-	-	-	-	-
Densidad (g/mL)	1.005	1.015	1.005	1.008	1.003
Cetonas	-	-	-	-	-
Bilirrubina	-	-	-	-	-
Glucosa (mg/dL)	-	150	-	150	250

Tabla 14

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

Indicador	Basal (n=20)	<i>E. japonica</i> (n=3)	Picolinato de cromo (n=3)	<i>E. japonica</i> y picolinato de cromo (n=3)	Control diabético (n=3)
Leucocitos	-	trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Nitritos	-	+	+	-	+
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	-	++	++	++	++
pH (unidades)	7.5	7.0	7.5	7.5	6.5
Sangre	-	-	-	-	-
Densidad (g/mL)	1.020	1.024	1.020	1.008	1.025
Cetonas	-	trazas	-	-	-
Bilirrubina	-	+++	-	-	-
Glucosa	-	+	+	-	+

n=3

Tabla 15

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Indicador	<i>T. stans</i>	Picolinato de cromo	<i>T. stans</i> y picolinato de cromo	Control diabético
Leucocitos	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Nitritos	+	-	-	+
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	+++	++++	+++	+++
pH	7.0	7.5	7.5	7.25
Sangre	-	-	-	+
Densidad (g/mL)	1.020	1.015	1.005	1.010
Cetonas	-	-	-	+
Bilirrubina	-	-	-	-
Glucosa (mg/dL)	100	-	-	350

n=3

Tabla 16

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

Indicador	<i>E. japonica</i>	Picolinato de cromo	<i>E. japonica</i> y picolinato de cromo	Control diabético
Leucocitos	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Nitritos	+	+	+	+
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	++	++	++	++
pH (unidades)	7.5	7.0	8.0	7.0
Sangre	-	-	-	+
Densidad (g/mL)	1.020	1.020	1.0025	1.018
Cetonas	-	-	-	-
Bilirrubina	-	-	-	-
Glucosa	+	-	-	+

n=3

7. DISCUSION

Como se mencionó en los antecedentes el uso adecuado de plantas medicinales con propiedades comprobadas, está revirtiendo una tendencia que pudo haberlos extinguido. Más del 60% de la población mundial sigue utilizando la herbolaria para procurar su propia salud, y alrededor del 50% de los productos farmacéuticos utilizados hoy en día, proviene de productos extraídos de plantas (Pamplona, 1999).

Hace mas de 100 años el Dr. José Eleuterio González citó en su cátedra de Farmacia que más de una docena de plantas medicinales originarias de nuestro estado eran utilizadas por la población (González, 1998). También sabemos que existe un número importante de plantas medicinales utilizadas empíricamente para diversos padecimientos en especial para la diabetes. Sin embargo, a pesar de que se han aumentado las investigaciones y estudios científicos de las plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades (Baudillo, 1995; Domínguez, 1976).

Por otro lado, se han reportado diversos estudios sobre las propiedades hipoglucémicas de metabolitos de diversas plantas. Como ejemplo podemos citar el hallazgo de flavonoides aislados de las semillas de *Cuminum nigrum*, los cuales presentaron una significativa disminución de la glucosa en ratas normoglicémicas y ratas

diabéticas inducidas con aloxano (Ahmad *et al.*, 2000). Otro trabajo reporta el hallazgo de una disminución de la hiperglucemia en tratamientos con saponinas aisladas en hojas de *Acanthopanax senticosus* (Sui *et al.*, 1994). Cabe mencionar que en algunos extractos de las plantas estudiadas en el presente trabajo, se encontró la presencia de saponinas.

El hecho de encontrar en nuestra investigación presencia de alcaloides en los 3 extractos de *T. stans* concuerda con 2 trabajos reportados por Constantino en el año 2003 en donde estudia el aislamiento y caracterización de las actividades farmacológicas de alcaloides de *T. stans* encontrando que los alcaloides tecomanina y tecostatina mostraron ser responsables del efecto hipoglucémico (Constantino, 2003a,b). Además, Hammouda *et al.* (1964) y Hammouda y Amer (1971) demostraron que la tecostatina y tecomanina administradas intravenosamente producen un efecto hipoglucémico más fuerte que el inducido por tolbutamida en conejos.

En otros estudios Lozoya-Meckes en 1980 y Lozoya-Mellado en 1985 reportaron efecto hipoglucémico después la administración oral de infusión de *T. stans* en conejos y perros, respectivamente (Lozoya-Meckes, 1980; Lozoya-Mellado, 1985). Posteriormente, Bnouham (2006) en un estudio de revisión sobre plantas medicinales con potencial actividad antidiabética menciona que *T. stans* disminuye significativamente el área bajo la curva de tolerancia a la glucosa en conejos a los cuales se les administró gástricamente la preparación de la planta. Asimismo, en nuestro trabajo, la presencia de sustancias terpénicas en los extractos de *E. japonica* se relaciona con el trabajo reportado por De Tommassi en 1991 quién estudia los efectos de los glicósidos sesquiteropénicos 1-3 y triterpenoides polihidroxilados 5-6 aislados por

extracción metanólica de *E. japonica* en ratas diabéticas genéticamente. El glicósido sesquiterpénico 3 y los triterpenoides polihidroxiados 5 y 6 produjeron una marcada inhibición de la glucosuria (De Tommassi 1991). Estas investigaciones han puesto de manifiesto que los extractos de níspero (variedad japonesa) consiguen reducir los niveles de glucosuria en los ratones diabéticos. Los glicósidos sesquiterpénicos y los triterpenoides polihidroxiados, sustancias presentes en el níspero, han sido identificados como los responsables de esta acción antidiabética.

El efecto antidiabético del níspero ha sido demostrado también en humanos según investigaciones llevadas a cabo en la Universidad Nacional Autónoma de México (Roman *et al.*, 1991). Cabe pues recomendar el consumo abundante de nísperos en caso de diabetes. Como ocurre con otras frutas, el hecho de contener azúcar no las hace inapropiadas para los diabéticos, tal como podría pensarse. Las frutas y otros alimentos de origen vegetal, guardan todavía muchos secretos. Por otro lado, se encontró cromo en *T. stans* en una concentración de 54 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ y de 279 $\mu\text{g}/100\text{g}$ en *E. japonica*. Nuestros resultados no son exactamente comparables con otras investigaciones en donde se estudia el efecto hipoglucémico de estas plantas debido a que existen variaciones en cuanto al modelo animal utilizado, vía de administración, dosis de la planta y el modo de preparación del extracto. Como se mencionó anteriormente el cromo se considera elemento traza esencial en humanos y animales y tiene una función importante en el metabolismo de la insulina, como factor de tolerancia a la glucosa (FTG) (Anderson, 2000). El hecho de encontrarlo presente en estas especies pudiera resultar favorable en la reducción de la hiperglicemia. Desde varios años atrás, múltiples estudios se han realizado para estudiar la función del cromo como factor de tolerancia a la glucosa

(Vinson and Hsiao, 1985; Chowdhury *et al.*, 2003; Brown, 2003), sin embargo, no existen datos reportados del estudio de este elemento en especies vegetales con efecto hipoglucemiante. Aunque se conoce que el cromo favorece la reducción de la hiperglucemia, el grupo tratado con la planta mas picolinato de cromo tuvo menor porcentaje de disminución de la hiperglucemia con respecto al grupo tratado solamente con *T. stans* (32.3% vs 33.5%), sin mostrar diferencia estadísticamente significativa entre estos dos grupos ($p>0.05$).

Con respecto a los resultados de la presencia de trazas de leucocitos en casi todos los grupos de animales diabéticos en los diferentes tratamientos, es un signo de inflamación a nivel renal y de las vías urinarias. Las infecciones de vías urinarias (IVU) se encuentran relacionadas con problemas obstructivos, alteraciones en la función del tracto urinario. Los pacientes diabéticos tienen dos veces más riesgo de adquirir infecciones complicadas del tracto urinario en comparación con los que no la padecen; la pielonefritis aguda es cinco veces más frecuente en diabéticos; en 60% de los pacientes hospitalizados con bacteremia y diabetes, la fuente de infección son las vías urinarias. La diabetes mellitus (DM) es un factor predisponente para adquirir infección en vías urinarias. Las IVU se relacionan con la descompensación y elevación de la glicemia, pueden evolucionar hacia la cronicidad y, por tanto, promover fallo renal y consecuentemente un deterioro de la calidad de vida de los pacientes que la padecen (Flores *et al.*, 2005; Morrison, 1998).

Asimismo la presencia de proteínas en la orina de la gran mayoría de los grupos de animales diabéticos en los diferentes tratamientos se debe a una complicación renal

conocida como nefropatía diabética (ND), durante la cual el riñón presenta daño y se acumula más proteína en la orina de lo normal. A medida que la enfermedad progresa cada vez se destruye más parte del riñón y con el tiempo la capacidad de este para funcionar comienza a declinar, lo que finalmente puede llevar a insuficiencia renal crónica (IRC). La causa exacta de la ND se desconoce, pero se cree que la hiperglucemia no controlada lleva al desarrollo del daño renal, aunque no todas las personas diabéticas desarrollan esta afección. La presencia de cantidades altas de glucosa puede dañar las estructuras del riñón, haciendo que se vuelvan gruesas y cicatricen. Lentamente con el tiempo más y más vasos sanguíneos resultan destruidos. Las estructuras renales se empiezan a filtrar y la proteína (albúmina) empieza a salir en la orina. La ND generalmente viene acompañada de otras complicaciones de la diabetes, incluyendo hipertensión, retinopatía y cambios vasculares (Stapleton, 2002).

Además, se encontró presencia de glucosa en la orina de algunos grupos de animales diabéticos. En general, la glucosa no aparece en orina hasta que su concentración plasmática no sobrepasa la capacidad de reabsorción tubular (aproximadamente 180 mg/dL). No obstante, en algunas personas sanas la glucosa puede pasar a la orina a concentraciones mucho menores. Por el contrario, el umbral renal de la glucosa aumenta con la edad y como consecuencia, muchos diabéticos no excretan glucosa en la orina. Es importante recordar que la concentración de glucosa urinaria es el reflejo de la concentración plasmática durante el tiempo de formación de la orina, por lo que no refleja la glucemia en el momento del examen de la muestra de orina. La presencia de glucosuria posee una elevada sensibilidad para el diagnóstico de diabetes mellitus, por lo que la determinación de glucosa en orina puede ser un parámetro de cribado de esta

enfermedad. En ningún caso se puede establecer un diagnóstico atendiendo tan solo a la presencia de glucosa en orina, pero si permite detectar pacientes presumiblemente diabéticos de forma rápida y eficaz (Goswami *et al.*, 2001; Flores *et al.*, 2005).

La presencia de nitritos en la orina se relaciona con infección por bacterias, ya que las son los agentes más frecuentes en las infecciones de las vías urinarias. La *Escherichia coli*, causante de la mayoría de estas infecciones, y otros gérmenes patógenos de la orina, reducen los nitratos de la orina a nitritos durante su crecimiento. La prueba de los nitritos se basa en la capacidad de algunos microorganismos para reducir los nitratos a nitritos (Geerlings *et al.*, 2000).

La presencia de cetonas en la orina indica un estado de acidosis. Su determinación va a ser especialmente importante en los pacientes diabéticos, en los que la existencia de cetonuria se asocia a un mal control de la enfermedad. El alcoholismo, el ayuno, las dietas hiperproteicas o los procesos febriles agudos, en especial en niños, también pueden ser causas de aparición de cuerpos cetónicos en orina (Goswami *et al.*, 2001).

En los grupos no diabéticos no se obtuvo presencia o valores anormales de estos indicadores. Los parámetros analizados en la orina de los animales estudiados proveen información respecto al metabolismo de los hidratos de carbono, del funcionamiento del hígado, del riñón y del equilibrio ácido-básico.

8. CONCLUSIONES

En la caracterización fitoquímica, el extracto etanólico fue el que mostró el mayor número de familias de metabolitos.

Se identificó la presencia de alcaloides en los 3 extractos de *T. stans* y sustancias terpénicas en los extractos de *E. japonica*.

Se reporta en esta investigación la presencia de cromo en *T. stans* y *E. japonica*

Se encontró que la dosis de EZT que produjo diabetes moderada (170-300 mg/dL) fue de 45 mg/kg de peso.

En los grupos de animales diabéticos, a los cuales se les administraron los diferentes tratamientos, observamos que a los 45 días de tratamiento, el grupo al cual se le administró la infusión de *T. stans* fue el que mostró el mayor porcentaje de reducción de la hiperglucemia (33.5%).

Con respecto a los diferentes tratamientos con *E. japonica*, en el grupo tratado con la mezcla de infusión de *E. japonica* y picolinato de cromo se obtuvo el mayor porcentaje de reducción de la hiperglucemia (19.1%).

Al final de los diferentes tratamientos, todos los grupos diabéticos presentaron leucocitos y proteínas en orina, lo que indica una infección, así como probable daño en la función glomerular.

Con este estudio se confirma que las plantas *T. stans* y *E. japonica* poseen efecto hipoglucemiante.

APENDICE

Tabla 17

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales no diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Indicador	basal (n=20)	<i>T. stans</i> (n=3)	Picolinato de cromo (n=3)	<i>T. stans</i> y picolinato de cromo (n=3)	Control diabético (n=3)
Leucocitos	-	-	-	-	-
Nitritos	-	-	-	-	-
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	-	-	-	-	-
pH	7.5	8.0	8.0	7.25	7.25
Sangre	-	-	-	-	-
Densidad (g/mL)	1.010	1.025	1.005	1.005	1.030
Cetonas	-	-	-	-	-
Bilirrubina	-	-	-	-	-
Glucosa	-	-	-	-	-

n=3

Tabla 18

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales no diabéticos a los 7 días después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

Indicador	basal (n=20)	<i>E. japonica</i> (n=3)	Picolinato de cromo (n=3)	<i>E. japonica</i> y picolinato de cromo (n=3)	Control (n=3)
Leucocitos	-	-	-	-	-
Nitritos	-	-	-	-	-
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	-	-	-	-	-
pH (unidades)	7.0	8.0	6.83	7.0	7.0
Sangre	-	-	-	-	-
Densidad (g/mL)	1.020	1.020	1.022	1.025	1.030
Cetonas	-	-	-	-	-
Bilirrubina	-	-	-	-	-
Glucosa	-	-	-	-	-

n=3

Tabla 19

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales no diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con 30 g/L de *T. stans* y 200 µg de picolinato de cromo.

Indicador	<i>T. stans</i>	Picolinato de cromo	<i>T. stans</i> y picolinato de cromo	Control
Leucocitos	-	-	-	-
Nitritos	-	-	-	-
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	-	-	-	-
pH	7.5	7.5	7.0	7.25
Sangre	-	-	-	+
Densidad (g/mL)	1.003	1.005	1.005	1.010
Cetonas	-	-	-	-
Bilirrubina	-	-	-	-
Glucosa	-	-	-	-

n=3

Tabla 20

Valores promedio de los indicadores del examen general de orina (EGO) en los grupos de animales no diabéticos a los 45 días después de administrar los diferentes tratamientos con 40 g/L de *E. japonica* y 100 µg de picolinato de cromo.

Indicador	<i>E. japonica</i>	Picolinato de cromo	<i>E. japonica</i> y picolinato de cromo	Control
Leucocitos	-	-	-	-
Nitritos	-	-	-	-
Urobilinógeno	Normal	Normal	Normal	Normal
Proteínas	-	-	-	-
pH (unidades)	7.33	7.5	7.5	7.2
Sangre	-	-	-	-
Densidad (g/mL)	1.018	1.020	1.022	1.023
Cetonas	-	-	-	-
Bilirrubina	-	-	-	-
Glucosa	-	-	-	-

n=3

LITERATURA CITADA

Ahmad M, Akthar MS, Malik T, Gilani AH. 2000. Hypoglycaemic action of the flavonoid fraction of *Cuminum nigrum* seeds. *Phytother Res* 14:103-106.

ADA, American Diabetes Association. 1997. Report of Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 20: 1183-1197.

ADA, American Diabetes Association. 2001 Hyperglycemic crises in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 24 (Suppl 1): S83– S90

Adame J, Adame H. 2000. Plantas curativas del Noreste Mexicano. Ed. Castillo. México. pp. 386.

Aguilar CG. 2001. Determinación de la actividad hipoglucemiante de la *Phoradendron tomentosum (Dc) engelem*, sobre un modelo de ratas diabéticas de experimentación. Tesis de M. Sc. FCB UANL, Nuevo León, México. pp.37.

Alarcón FJ, Román R, Flores JL. 1993. Plantas medicinales usadas en el control de la diabetes mellitus. *Ciencia* 44(3): 363-381.

Alarcón A FJ, Gutiérrez MA, Banderas TR, Vásquez LI, Flores SJL, Román RR. 2003. Study of the antihyperglycemic effect of anti-diabetic plants in rabbits with impaired glucose tolerance. *Proc West Pharmacol Soc* 46:148-152.

Anderson RA. 1998. Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr* 17:548-555.

Anderson RA. 2000. Chromium in the prevention and control of diabetes. *Diabetes metab* 26(1):22-27.

Baudillo J. 1995. *Guía de la Flora Medicinal*. Ed. Aedos, México. pp. 542.

Bnouham M, Ziyat A. and Mekhfi H. 2006. Medicinal plants with potential antidiabetic activity –A review of ten years of herbal medicine research. *Int J Diabetes & Metabolism* 14:1-25.

Brown M. 2003. Harnessing chromium in the fight against diabetes. *Drug Discov Today* 8(21):962-963.

Calzado FC, Verde SMJ, Oranday CA, Hauad ML, Segura LJ, Aguilar CG. 2001. Determinación del efecto hipoglucemiante de la *Phoradendron tomentosum (Dc) engelem*, sobre un modelo de ratas diabéticas de experimentación. *ReSPyN*. Disponible en el sitio de red: (<http://www.uanl.mx/publicaciones/respyn/especiales/ssnl>)

Cedric MS , Alan MR. 1993. *Farmacología*. Ed. Médica Panamericana, México. Pp. 1135.

Cefalu WT, Bell-Farrou AD, Stigner J, Wang ZQ, King T, Morgan T, Terry JG. 1999. Effect of chromium picolinate on insulin sensitivity in vivo. *J Trace Elem Exptl Med* 12:267-274.

Chowdhury S, Pandit K, Roychowdury P, Bhattacharya B. 2003. Role of chromium in human metabolism, with special reference to type 2 diabetes. *J Assoc Physicians India* 51:701-705.

Cohn LA, Dodam JR, McCaw DL, Tate DJ. 1999. Effects of chromium supplementation on glucose tolerance in obese and non obese cats. *Am J Vet Res* 60(11):1360-1363.

Constantino L, Lins AP, Barlocco D, Celotti F, El-Abady SA, Brunetti T, Maggi R, Antolini R. 2003(a). Characterization and pharmacological actions of tecostanine. An alkaloid of *Tecoma stans*. *Pharmazie* 58(2):140-142.

Constantino L, Raimondi L, Parisino R, Brunetti T, Pessoto P, Giannessi F, Lins AP, Barlocco D, Antolini L, El-Abady SA 2003(b). Isolation and pharmacological activities of the *Tecoma stans* alkaloids. *Farmac* 58(9):781-785.

Del Castillo OS, González LJA, González GJ, Prieto GS, Urquiola CA. 2004. Identificación fitoquímica de las hojas y ramas de la *Helietta cubensis* Monach-Moldenke, especie endémica de Cuba. *Rev. Cubana Farm* 38(1).

Daniel WW. 1996. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial UTEHA, Noriega Editores, México, pp. 878.

De Tommasi N, De Simone F, Ciririo G, Cicala C, Pizza C. 1991. Hypoglycemic effects of sesquiterpene glycosides and polyhydroxylated triterpenoids of *Eriobotrya japonica*. *Planta Med* 57(5):414-416.

Domínguez XA. 1976. Aspectos químicos de las plantas tóxicas y medicinales del noreste de México. En: Lozoya L.J. Estado actual de las plantas medicinales mexicanas. Ed. IMEPLAN A.C., México, pp.131-145.

Domínguez XA. 1979. Métodos de investigación fitoquímica. Ed. Limusa. México. pp. 281.

Escobar RLM, Ibarra SMJ. 2000. Disponibilidad y consumo de alimentos como factores de riesgo en dos cafeterías universitarias. Tesis MSP Esp. NC, FaSPyN, UANL, Nuevo León, México. pp. 199.

Flores AE, Parra RI, Jiménez AA, Fernández TG. 2005. Pruebas presuntivas del análisis de orina en el diagnóstico de infección en vías urinarias entre diabéticos tipo 2. *Salud Pública Méx* 47:376-380.

Forga L, Zulet A. 2002. Alimentación y Salud Pública. En: JA. Martínez, I. Astiasarán y H. Madrigal: Alimentación y Salud Pública. Editorial Mc. Graw Hill, 2ª. Edición, México, pp. 198-205.

Franz MJ. 2001. Nutrioterapia Médica en diabetes mellitas e hipoglucemia de origen no diabético. En: Mahan K y Escott-Stump S. (Ed): Nutrición y Dietoterapia de Krause. Editorial Mc. Graw Hill, 10ª. Edición, pp. 805-833.

Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Hoekstra JB, Bouter KP, Braveboer B, Collet TJ, Jansz AR, Hoepelman AM. 2000. Asymptomatic bacteriuria may be considered a complication in women with diabetes. *Adv Exp Med Biol* 485:309-314.

González FMM. 1998. Plantas Medicinales del Noreste de México. IMSS, México, pp. 128.

Goswami R, Bal CS, Tejaswi S, Punjabi GV, Kapil A, Kochupillai N. 2001. Prevalence of urinary tract infection and renal scars in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 53(3):181-186.

Hammouda Y, Rashid A, Amer M. 1964. Hypoglycemic properties of tecomine and tecostatine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 16, 833-834.

Hammouda Y, Khalafallah N. 1971. Stability of tecomine the major antidiabetic factor of *Tecoma stans* (Juss) F. Bignoniaceae. *Journal of Pharmaceutical Science* 60, 1142-1145.

Hernández GE, Aguilar CA, Aguilar S L, Román RR, Chávez MAA, García VLM, Flores SJL, Alarcón AFJ. 2002. Studies on hypoglycemic activity of Mexican Medicinal Plants. *Proc West Pharmacol Soc* 45:118-124.

INEGI. 2003. Anuario estadístico. Edición 2003, Nuevo León. pp.529.

Kalman DS. 2003. Chromium picolinate and type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 78(1):192-193.

Lozoya MM. 1980. Tronadora (*Tecoma stans* L. H.B.K.) Medicina tradicional (México)3, I.

Lozoya MM, Mellado CV. 1985. Is the *tecoma stans* infusión an antidiabetic remedy? *J Ethnopharmacol* 14(1):253-262.

Martínez CB. 2001. Diabetes mellitus y sus complicaciones. *Revista de Salud Pública y Nutrición (ReSPyN)*, México. Disponible en el sitio de red: (<http://www.uanl.mx/publicaciones/respyn/especiales/ssnl>)

Mc. Carty P, Zimmet P. 1997. Diabetes 1994-2010: Global estimate and projections. *Diabetes care* 20:1785-1790.

Morrison K. 1998. "Laboratorio Clínico y Pruebas de Diagnóstico", Capítulo 4. Ed El Manual Moderno, México. pp. 486.

Muñiz WW, Marques M. 1898. Glycemia and immunohistochemical changes in the endocrine pancreas of the turtle *Chrysemys dorbignii* treated with streptozotocin. *Brasilian J Med Biol Res* 22:1033-1037.

NMX-AA-051-SCFI-2001; Norma Oficial Mexicana sobre Análisis de agua – Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas – Método de prueba 1-52, Distrito Federal, México.

Pamplona RJ. 1999. Enciclopedia de las plantas medicinales. Editorial SAFELIZ, S.L. España.

Pamplona RJ. 2003. Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo. Ed. SAFELIZ, España, pp.446

Rakieten N, Rakieten ML, and Nadkarmi MV. 1963. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother* 29:91-98.

Rodríguez GLM, Espinosa CJI, Hernández CL. 2004. Prevalencia de uso de alternativas de tratamiento no médico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de comunidades rurales. Primera Feria de Investigación y Docencia, México. Disponible en el sitio de red: <http://www.uv.mx/medmina/Feria/Presantnmsimp.htm>

Roman RR, Flores SJL, Partida HG, Lara LA, Alarcón AF. 1991. Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Arch Invest Med (México)*. 22:87-93

Rosenstein SE. 1993. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas . Ed. PLM, S.A. de C.V. México pp. 1646.

Rossi C, Arias G, Lozano N. 2002. Evaluación antimicrobiana y fitoquímica de *Lepechinia meyeri Walp* “Salvia”. *Ciencia e Investigación* 5(1).

Secretaría de Programación y Presupuesto. 1981. Síntesis Geográfica de Nuevo León, México. pp. 228.

Sharma HK, Vaidyanathan CS. 1975. A new mode of ring cleavage of 2,3-dihidroxibenzoate 2,3-oxigenase. Eur J Biochem 1(56):163-171.

Stapleton A. 2002. Urinary tract infections in patients with diabetes. Am J Med 113 Suppl 1A:80S-84S.

Sui DY, Lu ZZ, Li SH, Cai Y. 1994. Hypoglycaemic of saponin isolated from leaves of *Acanthopanax senticosus*. Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih 19: 683-685.

U.S. National Library of Medicine. Medline Plus Health Information. Drug Information. United States of America. Disponible en el sitio de red: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002418.htm>

Vinson JA, Hsiao KH. 1985. Comparative effect of various forms of chromium on serum glucose: an assay for biological active chromium. Nutr Reports Intl 32(1):1-7