



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Facultad de ciencias  
Biomedicina

**ESTUDIO QUIMIOTAXONÓMICO Y EFECTO SOBRE LA GLUCEMIA DEL GÜEREQUE:  
*Ibervillea Lindheimeri* (A Gray) Greene**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**JOSÉ LUIS FIGUEROA HERNÁNDEZ**

**TUTOR: DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ  
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM.**

**COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**DR. MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.**

**MÉXICO, D.F. ABRIL/2014**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Facultad de ciencias  
Biomedicina

**ESTUDIO QUIMIOTAXONÓMICO Y EFECTO SOBRE LA GLUCEMIA DEL GÜEREQUE:  
*Ibervillea Lindheimeri* (A Gray) Greene**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**JOSÉ LUIS FIGUEROA HERNÁNDEZ**

**TUTOR: DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ  
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM.**

**COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**DR. MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.**

**MÉXICO, D.F. ENERO/2014**



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

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

OFICIO FCIE/DEP/080/14

ASUNTO: Oficio de Jurado

**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
**Director General de Administración Escolar, UNAM**  
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **14 de octubre de 2013**, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del (la) alumno (a) **FIGUEROA HERNÁNDEZ JOSÉ LUIS** con número de cuenta **13987600** con la tesis titulada: "**ESTUDIO QUIMIOTAXONÓMICO Y EFECTO SOBRE LA GLUCEMIA DEL GÜEREQUE *Ibervillea lindheimeri* (A. Gray) Greene**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. MARIANO MARTINEZ VAZQUEZ**:

Presidente:	DR. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA
Vocal:	DR. ADOLFO ANDRADE CETTO
Secretario:	DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI
Suplente:	DR. RAMÓN MARCOS SOTO HERNÁNDEZ
Suplente	DRA. HORTENSIA ROSAS ACEVEDO

De acuerdo con lo anterior, el(a) alumno(a) se acogió a la nueva normatividad, con base en el artículo QUINTO TRANSITORIO en apego a lo establecido en el Artículo 31 del Reglamento General de Estudios de Posgrado (9 octubre de 2006).

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

**Atentamente**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a 28 de enero de 2014.

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga  
Coordinadora del Programa



MCAA/MJFM/ASR/ipp

## AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Al CONACYT por la beca otorgada (Registro de becario 206563, 2006-2).

A la Facultad de Ciencias y la División de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Dr. Mariano Martínez Vázquez, por su valiosa asesoría y la experiencia de vida académica. Así como al Instituto de Química, señero en la investigación en México (ver nota adelante).

Al Dr. José Pedraza Chaverri por su apoyo y deferencia.

Al Dr. Marco Antonio Juárez Oropeza por su comprensión y solidaridad.

## OTROS AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de San Nicolás de Hidalgo, a la Facultad de Medicina “Dr. Ignacio Chávez Sánchez” y a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo: *Alma mater*. Crisol de pensadores. A mis maestros en ellas.

A mi querida y añorada Morelia, Michoacán: por tanto que me diste y por todo lo que allá dejé, en espera, en espera...

Al Departamento de Farmacología, a La Facultad de Medicina y a la Universidad Nacional Autónoma de México: *Alma pater*. Bastión cultural y científico invaluable en nuestra nacionalidad. A mis maestros.

A los técnicos del Instituto de Química, por su apoyo, en especial a Teresa Ramírez Apan y Antonio Nieto Camacho, y de la Facultad de Medicina a la Biol., M. en C. Gabriela Fernández Saavedra.

A todos mis compañeros de generación, porque de ellos aprendí en forma colaborativa tanto en lo académico como en las vivencias existenciales.

A todos mis alumnos, porque al tratar de enseñarles aprendí.

### NOTA:

La parte química del estudio, desde el procesamiento de la planta *Ibervillea lindheimeri* para secado, molido y reducción a polvo, extractos acuosos y orgánicos, así como el aislamiento de MS se llevó a cabo en el laboratorio 1-4 del Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

La evaluación de la actividad hipoglucemiante y antihiperglucemiante de los compuestos de prueba en animales de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química, y en el Bioterio anexo al Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, ambos de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los estudios de Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear, infrarrojo, CG/EM y Espectrometría de Masas se llevaron a cabo en los laboratorios respectivos, en el Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

## DEDICATORIA

A mi esposa María del Rocío, por su amor y solidaridad inmarcesibles e insustituibles de toda la vida; a mis hermosos y nobles hijos Rocío Ileri, Yuritzi y José Luis, porque al ser padre entendí el sentido de ser hijo, y al llenarme de nietos comprendí el significado universal del Quetzalcoatl, representado en el mural Epens, en la Facultad de Medicina: eternidad en la continuidad.

A Mis hijos políticos y mis nietos adorados.

A mis abuelos (qepd), tronco generacional de mi querida familia, fundamento de honradez y tesón en el trabajo.

A mis padres Carlos y Esperanza (qepd), a la distancia les digo son insustituibles y seguí sus máximas vitales morales: honradez y trabajo.

A mis hermanos, cuñados y sobrinos.

## Índice

RESUMEN

ABSTRACT

- I. INTRODUCCIÓN
- II. HIPERGLUCEMIA Y DIABETES MELLITUS
  - II.1 OTROS TIPOS DE DIABETES
- III. IMPACTO SANITARIO
- IV. LA DIABETES MELLITUS COMO UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA
- V. CUCURBITACINAS COMO AGENTES CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA RELEVANTE POTENCIAL
- VI. DETECCIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIHIPERGLUCEMIANTES
- VII. HIPÓTESIS
- VIII. OBJETIVOS
- IX. PARTE EXPERIMENTAL
  - A. MÉTODOS GENERALES
  - B. MATERIAL VEGETAL
  - C. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS
  - D. ANIMALES EXPERIMENTALES
  - E. INDUCCIÓN DE DIABETES EXPERIMENTAL
  - F. ENSAYO BIOLÓGICO
- X. RESULTADOS
- XI. DISCUSIÓN
- XII. CONCLUSIONES
- XIII. REFERENCIAS
- XIV. ANEXOS

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Pag.
1	Estructura química de cucurbitacinas activas.....23
2	Genisteina (isoflavona), proantocianidina (polifenol), Charantina (glucosido de estero), $\beta$ -sitosterol (estero)..... 29
3	Estructura de las cucurbitacinas <b>1 – 3</b> de <i>I. lindheimeri</i> .....35
4	Estructura de las cucurbitacinas <b>1 – 3</b> de <i>I. lindheimeri</i> , y del glicósido <b>4</b> de <i>Hintonia standleyana</i> .....37

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Pag.
1	Análisis de plantas medicinales mexicanas [25].....27
2	Plantas de la familia Cucurbitacea y otra que es fuente de cucurbitacinas [25].....28
3	Efecto del extracto de acetato de etilo, en relación de dosis usada, en los niveles de glucosa en ratones CD-1 sanos y en ayunas.....36
4	Efecto de la fracción EEE del extracto de acetato de etilo, en relación de dosis usada, en los niveles de glucosa en ratones CD-1 sanos y en ayunas.....37
5	Actividad de <b>1 – 3</b> en los niveles de glucosa en sangre en ratones CD-1 diabéticos (STZ) en ayunas.....38
6	Actividad del extracto y los compuestos <b>1 – 3</b> en los niveles de glucosa en la sangre en ratones CD-1 sanos en ayunas.....39
7	Constituyentes detectados por CG/EM en <i>Ibervillea lindheimeri</i> .....39



## RESUMEN

El análisis químico de *Ibervillea lindheimeri* (A. Gray) Greene, ~~condujo al~~ permitió aislamiento de 23,24-dihidrocurbitacina D (**1**), 23,24-dihidrocurbitacina F (**2**) y 2-O-β-D-glucopiranosil-23,24-dihidrocurbitacina F (**3**). La identificación de **1-3** se logró por la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los informados en la literatura. Además, por medio del análisis de cromatografía de gases acoplada a espectro de masas (CG-EM) se detectaron 10 compuestos en el extracto de hexano. Cabe señalar que la 23,24-dihidrocurbitacina F presente en *I. lindheimeri* también es sintetizada por otras especies de diferentes géneros de la familia Cucurbitaceae [36, 38] y aún por especies de otras familias como la *Begonia heracleitolia* (Begoniaceae) [39]. En contraste, las cucurbitacinas llamadas kinoinas A, B y C sólo se han aislado de *Ibervillea sonora*.

Como un aspecto estructuralmente interesante los triterpenos aislados de *I. lindheimeri* presentan sustituyentes hidroxilo en la posición C-2 del anillo A, tales modificaciones no están presentes en los triterpenos aislados de *I. sonora*.

Por otro lado, el extracto de acetato de etilo de *I. lindheimeri* mostró actividad reductora de la glucemia en ratones sanos y diabéticos por estreptozotocina. Así mismo, las cucurbitacinas **1 – 3** mostraron actividad antihiper glucemiante en ratones diabéticos por STZ, similar a glibenclamida, pero a diferencia de ésta no reducen la glucemia en ratones normales.

Este es el primer informe sobre la composición química de *Ibervillea lindheimeri* así como su actividad sobre la glucemia y los metabolitos responsables de la misma.

## ABSTRACT

The chemical analysis of *Ibervillea lindheimeri* (A. Gray) Greene, led to the isolation of 23,24-dihydrocucurbitacin D (**1**), 23,24-dihydrocucurbitacin F (**2**) and 2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-23,24-dihydrocucurbitacin F (**3**). Their structures were identified by spectroscopy and spectral data comparison with those recorded in the literature. In addition, by means of GC-MS analysis were detected 10 compounds in the hexane extract. It is worth to note that the 23,24-dihydrocucurbitacin F present in *I. lindheimeri* is synthesized also by several species of different genera of the family Cucurbitaceae [37, 38] and even by species of other families, such as *Begonia heracleitolia* (Begoniaceae) [39]. In contrast, the cucurbitane-type triterpene named kinoins A, B and C have been isolated only from *I. sonorae*.

In summary, the presence of cucurbitane-type triterpenes in *I. lindheimeri* is in agreement with previous studies that these types of secondary metabolites are typical of the Cucurbitaceae family. However, it is notable that while the isolated triterpenes from *I. lindheimeri* present hydroxyl groups at C-2 position of the ring A, such modifications are not present in *I. sonorae*.

On the other hand, ethyl acetate extracts showed reducing activity of blood glucose in healthy and diabetic mice by streptozotocin. Compounds **1-3** showed anti-hyperglycemic activity in mice with diabetes by STZ, similar to glybenclamide, but unlike this do not reduce blood glucose in normal mice. Far as we know, this is the first report on the chemical composition of *Ibervillea lindheimeri* as well as their activity on blood glucose, activity imputed to **1 - 3** compounds.

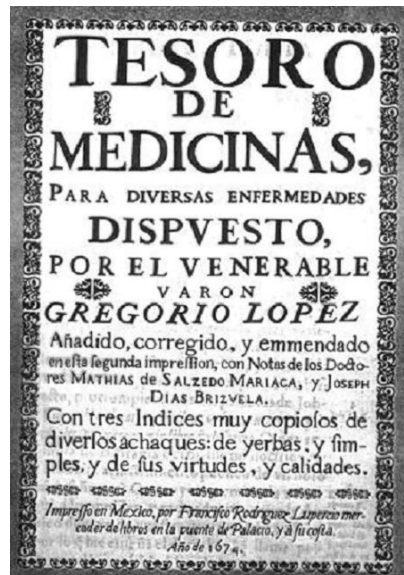
## I.INTRODUCCIÓN

“Dios creó los medicamentos en la Tierra y el hombre prudente no los desprecia”.

Jesús Bensyrac, de Alejandría: El eclesiástico.

En: Gregorio López “Tesoro de medicinas para diversas Enfermedades” Nueva España, 1580.

Imp. Rguez. Lupercion



Se sabe de la diabetes desde hace 3,500 años. En el Papiro de Ebers se cita a la diabetes (1,550 aC). Los Islotes de Langerhans fueron descritos en 1869. Bainting y Best, descubrieron la insulina en 1921, junto con su acción hipoglucemiante. Hacia 1955 estuvieron disponibles los antidiabéticos orales [1].

En Mesoamérica es probable que haya existido alguna entidad nosológica o patología similar a la diabetes mellitus; sin embargo, debió ser poco frecuente o de relevancia menor pues no se encuentra un equivalente en la descripción sistemática médica-clínica realizada en el *Libellus de Medicinabulus Indorum Herbis* por Martín de la Cruz; no existe una cita específica de plantas utilizadas con tal fin [2]. La destrucción del sistema de producción, distribución y consumo de alimentos mesoamericanos por la guerra de conquista (maíz, frijol, calabaza, amaranto, quelites y quintoniles), con la desecación de los lagos con fines de tener espacio para la construcción y alteración de la vida alrededor de ellos (espirulinas, las algas del lago de Texcoco; aves acuáticas como la gallareta, chichicuilotos, patos diversos; peces, anfibios y batracios; rana, ajolote, acociles; una dieta considerada “vegetariana”) y el cambio de dieta forzado al uso de harina de trigo y de azúcar refinadas, grasas animales de cerdo, res, carnero, entre otros (dieta “no vegetariana”), combinado con la genética americana separada por

milenios de la genética europea, probablemente sea un factor para el desarrollo de la diabetes mellitus entre la población mexicana en particular y americana en general.

En México el primer informe sobre la diabetes mellitus (DM) fue realizado por Esteynefer en el S XVIII. La primera monografía escrita, publicada y difundida sobre la diabetes fue hecha por el médico Juan Manuel González Ureña, en 1869, en Morelia, Michoacán, el propósito fue servir a los médicos pero también al público en general [3,4].

En 1950 Salvador Zubirán funda el Instituto Nacional de la Nutrición, entre otros objetivos, para el estudio de la diabetes mellitus.

La diabetes ha tenido un incremento notorio en el S XX, probablemente debido a tres factores:

1. Carga genética intrínseca, susceptible a DM tipo 2
2. Inadecuada alimentación.
3. Aumento en la esperanza de vida [1], sobre todo en las clases media y media alta; poco menos para las clases más desprotegidas. Es conocido que el sector más pobre de nuestra tiene el peor régimen alimenticio. En éste sector se destaca el consumo de carbohidratos refinados, harinas y azúcar, más baratas que los productos proteicos de origen animal, leche y derivados. En cambio, en las clases altas existe el abuso en el consumo de alimentos en grandes cantidades. Adicionalmente el estado de estrés hace aumentar el apetito y la compulsión por comer sea la salida de muchos problemas.

La Diabetes mellitus es un trastorno endocrino y afecta a más de 176 millones de personas en el mundo [5], en México se ha estimado que aumentarán de 2 millones en 2002 a más de 6 millones en 2030, y será el mayor índice de diabetes mundial. La Secretaria de Salud de México informó en 2001, que la diabetes fue la primera causa de mortalidad entre los mexicanos [6]. Debido a sus complicaciones como: enfermedad cardiaca y vascular, retinopatía, insuficiencia renal y neuropatía, es causa común de morbilidad crónica y de incapacidad entre la población trabajadora.

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica no transmisible con alta prevalencia en América, en promedio causa 242.000 muertes anuales (110.000 hombres y 132.000 mujeres). En 2007, 22.000 muertes por DM (8% en conjunto) eran consideradas como evitables porque ocurrieron en personas menores de 50 años de edad. Esta proporción fue mayor entre los hombres (10%) respecto a las

mujeres (7%). El riesgo de mortalidad por DM entre hombres y mujeres fue similar en la región (32,7 y 33.0/100.000 respectivamente). En el grupo con mayor riesgo de mortalidad destaca México, ya que mostraron un aumento en hombres y mujeres [7].

Hoy, unos 347 millones de personas en todo el mundo tienen diabetes. Hay una epidemia global emergente de DM posiblemente como resultado de rápido aumento de sobrepeso, la obesidad y la inactividad física. Se prevé que para 2030 la diabetes llegará a ser la séptima causa de muerte en el mundo. El total de muertes por diabetes aumentará en más del 50% en los próximos 10 años. La DM Tipo 2 representa alrededor del 90% de la diabetes en todo el mundo. Informes sobre casos de DM tipo 2 en niños – antes raros – han aumentado en todo el mundo. En algunos países, representa casi la mitad de los recién diagnosticado. 80% de las muertes por diabetes ocurren en países de ingresos bajos y medianos. En los países desarrollados la mayoría de las personas con diabetes son mayores de 65 años; mientras que en los países en desarrollo los más frecuentemente afectados tienen entre 35 y 64 años. La DM es la principal causa de ceguera, amputación e insuficiencia renal, en parte debido a falta de conciencia sobre la enfermedad, la ignorancia, combinado con el acceso insuficiente a servicios de salud y medicamentos esenciales. La DM tipo 2 puede prevenirse con 30 min diarios de actividad física de intensidad moderada y una dieta saludable, en tanto que la diabetes tipo 1 no se puede prevenir [8].

Además, la situación y tendencias a nivel mundial muestran que alrededor de 9% de los adultos de 25 años y mayores mostraron elevación de la glucemia, en 2008. La glucemia media de la población mundial aumentó ligeramente entre 1980 y 2008 [9].

Para el diagnóstico de diabetes mellitus ha sido aceptada la hemoglobina glucosilada o HbA1c como una nueva prueba adicional, por Organización Mundial de la Salud (OMS, WHO siglas en inglés), pues ofrece un enfoque más práctico para detectar la enfermedad que afecta a casi 347 millones de personas en todo el mundo [10].

En México, en el año 2011 se citó a la diabetes mellitus tipo 2 entre las diez principales causas de morbilidad (413,450 casos, noveno lugar). Previamente en el año 2010 esta enfermedad se citó entre las principales causas de muerte.

## II. HIPERGLUCEMIA y DIABETES MELLITUS

Según la WHO (1999) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) (2004) [11] la DM se refiere a un trastorno metabólico de etiología indeterminada pero a la vez múltiple, caracterizada por hiperglucemia crónica; es decir, la presencia de concentraciones elevadas de glucosa libre en la sangre circulante, y presumiblemente en todo el cuerpo, con la alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas, debido a un defecto en la producción-secreción de insulina con deficiencia absoluta o relativa de la misma, o a disminución de su acción-eficacia ya que en algunas ocasiones está asociada con resistencia tisular a la acción de la insulina. La diabetes mellitus se ha dividido en dos formas o entidades principales con etiología, manifestaciones clínicas y enfoques terapéuticos diferentes:

Diabetes Tipo 1: considerada enfermedad autoinmune, en la cual el sistema inmunológico del propio paciente reacciona contra los antígenos de sus islotes de Langerhans y destruye sus células beta del páncreas. Al fallar el páncreas deja de producir insulina, hormona esencial para la vida, por la destrucción completa de las células B de los islotes de Langerhans. Hay carencia absoluta de insulina circulante en sangre periférica. Con muy poca frecuencia, esta variedad de diabetes puede ser más leve debido a anomalías genéticas específicas de la síntesis, almacenamiento y secreción de insulina. La diabetes tipo 1 se desarrolla y manifiesta principalmente en niños y adolescentes; no obstante, se ha observado un aumento de su frecuencia en grupos etarios más avanzados.

Diabetes tipo 2: Se manifiesta cuando el organismo, como un todo, es incapaz de responder con propiedad a la acción de la insulina pancreática. Existe un trastorno leve y precoz en el patrón de producción-secreción de la insulina, con cambios en su secreción cíclica, reducción en la frecuencia de los pulsos de insulina, y retraso y reducción en la respuesta pancreática normal ante la elevación de las cifras sanguíneas de glucosa, hasta finalmente cesar su capacidad de responder a la estimulación. Aún se desconoce la causa primaria de este trastorno de las células beta. Es muy frecuente en la edad adulta; sin embargo, existe una tendencia a aumentar el número de casos hacia la adolescencia y aún en la infancia.

La diabetes tipo 2 es un síndrome poligénico con etiología múltiple, más que una sola simple enfermedad específica. Conforme la diabetes se vuelve crónica y con ello la hiperglucemia, la glucosa normalmente utilizada como sustrato, combustible energético y como una señal biológica, y paradójicamente en cierto momento cambia para desempeñar el papel de una toxina para el propio

organismo. Los niveles de glucosa circulante elevados y sostenidos, de manera crónica, es la causa principal de las complicaciones graves entre ellas destacan: neuropatías, retinopatía, insuficiencia renal y enfermedades micro y macrovasculares, generando las manifestaciones clínicas características de la diabetes. Además, las células beta también están afectadas por la hiperglucemia crónica y por ello son un blanco de donde derivan complicaciones secundarias. Conforme la hiperglucemia empeora, las células beta sufren deterioro, cada vez secretan menos insulina y entran en un círculo en espiral negativa con pérdida progresiva de la función. A este deterioro en la función celular causada por una constante exposición a concentraciones suprafisiológicas de glucosa se le llama toxicidad por glucosa. Un mecanismo toral de la toxicidad de la glucosa es la formación de sustancias reactivas de oxígeno (SRO) en exceso, por varias vías mitocondriales y no mitocondriales. El islote es especialmente vulnerable a las SRO debido al nivel intrínsecamente bajo de enzimas antioxidantes, de esta manera el exceso de glucosa crónico y el nivel elevado de SRO pueden acelerar la proporción de apoptosis. Se ha demostrado que varios antioxidantes protegen contra el estrés oxidativo, entre ellas la N-acetilcisteína, la vitamina E; algunos hipoglucemiantes orales en uso contra la diabetes mellitus tipo 2 como glicazide, troglitazona y metformina tienen propiedades antioxidantes. Esta secuencia patofisiológica pone la escena para considerar a la terapia antioxidante como un adyuvante en el manejo de la diabetes [12].

Ciertos marcadores genéticos han demostrado aumentar el riesgo de desarrollar diabetes de tipo 1. La diabetes tipo 2 es una condición entre la familia. Sólo recientemente algunos genes han sido constantemente asociados con un mayor riesgo para la diabetes tipo 2 en ciertas poblaciones. Ambos tipos de diabetes son enfermedades complejas causadas por mutaciones en más de un gen, así como por factores ambientales.

Los síntomas y signos de la diabetes pueden ser pronunciados, tenues o no estar presentes. En la diabetes tipo 1, las manifestaciones clínicas clásicas son la producción de orina en exceso (poliuria), sed intensa (polidipsia), aumento del apetito (polifagia), pérdida de peso y cansancio. Tales manifestaciones pueden ser menos notorias en la diabetes tipo 2, o incluso no aparecer de manera temprana y la enfermedad es diagnosticada sólo varios años después de iniciada, a menudo cuando ya existen complicaciones.

## II.1 OTROS TIPOS DE DIABETES

Además, existen otros tipos de diabetes más específicos y mucho menos frecuentes cuya gravedad es variable, dependiendo de las circunstancias de aparición y oportunidad de tratamiento, entre ellas destaca:

La Diabetes gestacional, se refiere a cualquier grado de intolerancia a la glucosa (carbohidratos) manifestada o reconocida en cualquier momento durante el embarazo, y requiere de control adecuado. Por lo general desaparece de manera espontánea cerca de las seis semanas después del parto, cuando se restablece la glucemia normal. La diabetes en el embarazo puede dar lugar a varios resultados adversos, incluyendo malformaciones congénitas, mayor peso al nacer y un elevado riesgo de mortalidad perinatal. Un estricto control metabólico puede reducir estos riesgos al nivel de embarazadas no diabéticas.

Otros tipos de diabetes se presentan en menos del 5% de todos los casos de diabetes diagnosticados, entre ellos existe:

1. Defecto genético en las células beta;
2. Resistencia a la insulina determinada genéticamente;
3. Enfermedades del páncreas causadas por defectos hormonales, por compuestos químicos o por algunos medicamentos [13].

Por tanto, se justifica y resulta indispensable continuar estudiando esta enfermedad y sus complicaciones, tanto en la búsqueda de su etiología y tratamiento definitivo, cuanto de tratamientos parciales que en el ínterin permitan un mejor control y menores repercusiones para la salud y la calidad de vida de las personas con cualquier tipo de diabetes mellitus.

### III. IMPACTO SANITARIO

Además, se debe meditar en el impacto sanitario causado por la diabetes para entender la importancia de su prevención, diagnóstico precoz y tratamiento global óptimo y oportuno. Una de las medidas es la detección de personas con alto riesgo de desarrollar esta enfermedad, para lo cual se han aumentado e implementado nuevos criterios de diagnóstico para la diabetes, propuestos por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y por un Comité Asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS, WHO), y han agilizado la detección precoz de trastornos en la tolerancia a los carbohidratos; la medida más relevante para establecer el diagnóstico de diabetes en dichas personas ha sido la



reducción de los valores de la glucemia en ayuno de 140 mg/dL a 126 mg/dl (de 7.8 mmol/L a 7 mmol/L), no obstante la ausencia de manifestaciones clínicas clásicas del síndrome. Por ello se han acuñado los términos de “Impedimento del Manejo de la Glucosa en Ayuno” (IFG, Impaired Fasting Glycaemia) y “Tolerancia deteriorada a la Glucosa” (IGT, Impaired Glucosa Tolerance), como situaciones metabólicas intermedias entre la homeostasis normal de la glucemia y la alteración definitiva o diabetes mellitus. Ambos estadios previos a la diabetes, no son entidades clínicas propiamente dichas; sin embargo, su importancia estriba en ser factores de riesgo para el desarrollo de la diabetes mellitus o de alguna enfermedad cardiovascular satélite. Se refieren a niveles de concentración de glucosa por arriba del rango normal, pero por debajo de aquellos considerados diagnóstico de diabetes. Los sujetos en quienes se detecta IFG e IGT están sustancialmente en mayor riesgo de desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares que los individuos con tolerancia normal a la glucosa. Los beneficios de la intervención clínica en sujetos con intolerancia moderada a la glucosa es un tópico actual de mucho interés [13].

La Tercera Encuesta Nacional sobre Salud y Nutrición (Third National Health and Nutrition Survey (NANHES) encargada de estudiar la prevalencia de IFG, IGT y diabetes entre la población adulta de los Estados Unidos de Norteamérica, aplicando los viejos criterios de la OMS de 1985, estimó la prevalencia de diabetes en adultos  $\geq 20$  años de edad era de 5.1%; en cambio, al aplicar los nuevos criterios de la ADA de 1997 tal cifra aumentó a 7.8%, de ello se infiere antes no se diagnosticaba la prevalencia de diabetes en 2.7%; además, la prevalencia de la IFG fue de 6.9% en adultos  $\geq 20$  años de edad, y la de IGT de 15.6% en adultos entre 40 y 74 años de edad [13]. Vale destacar que estos porcentajes de prevalencia implican el diagnóstico de nuevos casos de diabetes y de la alteración en la tolerancia a la glucosa en millones de personas en el mundo; el conocimiento y detección de estas alteraciones previas a la diabetes franca, podría ayudar a establecer, de manera muy precoz, en las personas con estos trastornos metabólicos las medidas terapéuticas no farmacológicas que han demostrado utilidad en tales condiciones, estas son el ejercicio físico y una dieta restringida en calorías.

Datos compilados recientemente demuestran como aproximadamente 347 millones de personas en todo el mundo tienen diabetes mellitus, y tal número bien puede duplicarse para el año 2025. Gran parte de ese aumento se producirá en los países en desarrollo y será debido al incremento de la población, mayor esperanza de vida (envejecimiento), dietas inapropiadas, obesidad y sedentarismo. Para 2025, la mayoría de las personas con diabetes en los países desarrollados serán mayores de 65

años (jubilados), en cambio en los países en desarrollo la edad será entre 45-64 años, cuando aún están en productividad [14].

#### IV. LA DIABETES MELLITUS COMO UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica degenerativa cuya etiología precisa aún se desconoce. Sin embargo, se sabe de la participación importante de dos factores, el genético y las influencias externas caracterizadas por un estilo de vida mórbido donde a su vez participan la dieta-obesidad, la vida sedentaria con desequilibrio entre la ingesta y el consumo de energía, el tabaquismo, las dislipidemias, la hipercolesterolemia, la hipertensión, la resistencia a la insulina, su falta de producción o ambas, y la hiperglucemia, todo lo cual conforma el denominado “síndrome metabólico”.

El enfoque de tratamiento alopático actual se ha dirigido a controlar las manifestaciones sobresalientes del síndrome, pues por ellas se les ha encasillado en enfermedades parciales y no de manera general como pacientes con “síndrome metabólico”. Así, al tratar el signo o rasgo clínico característico se habla de pacientes hipertensos, dislipidémicos, con colesterol elevado o hiperglucémicos, cuyo tratamiento demanda de un medicamento o fármaco específico para reducir las cifras de presión arterial, los lípidos, el colesterol o la glucemia de manera específica, respectivamente, y en ocasiones la combinación de dos o más simultáneamente. De ésta manera se pretende evitar las lesiones consecuentes que se presentarán a largo plazo de no corregirse las cifras de los parámetros alterados.

Según datos macro-estadísticos, en el mundo, hacia 1985 la cantidad de personas con diabetes mellitus tipo 2 era de 30 millones, cifra que aumentó 135 millones en 1995, y a 177 millones en el año 2000, y se ha estimado que la cifra ascenderá a por lo menos 370 millones para el año de 2030, de no establecerse medidas preventivas más enérgicas y la recuperación de estilos de vida más activos y con dietas ancestrales por regiones geográficas, así como el descubrimiento, obtención y desarrollo de nuevas moléculas químicas, de fuentes sintéticas o de productos vegetales, para mejorar el tratamiento actual de la enfermedad y aún de la participación de la terapia génica, en tanto no se precise la etiología que permita orientar el tratamiento específico y definitivo. Además, para el 2030, debido en gran parte al aumento en la esperanza de vida en el mundo, la población con diabetes tendrá en promedio 65 años de edad en los países desarrollados, en tanto que en los países en desarrollo, como México, será de 45 a 64 años. Se vaticina que México pasará de 2.5 millones a 6.5 millones, aproximadamente, para el 2030, y ocupará la quinta posición mundial [14,15].

Se ha estimado que cada año mueren cerca de 4 millones de personas en el mundo por causa de la diabetes y sus complicaciones en la microcirculación (cardiovasculares), y como el núcleo de personas diabéticas se encuentra en plena edad productiva, la incapacidad física ocasiona la ausencia laboral y la dependencia social que demanda la atención por otras personas, en el hogar o en medio hospitalario, genera enormes problemas económicos [14].

En México el informe de Gobierno, estableció que la diabetes mellitus y sus complicaciones es la primera causa de muerte en el país, ya que de 20 918 muertes en 1985, asociados a ésta enfermedad, se pasó a 65 500 en septiembre del 2006. Un aumento aproximado del 300% en 20 años, con una tasa de mortalidad general de 1/48.96 (SSA, 2006). Para 2008 la DM fue la principal causa de muerte en la población mexicana [16].

La diabetes mellitus crónica degenerativa conduce a varias complicaciones serias a graves entre las que destacan: microangiopatía, polineuropatía, síndrome de pie diabético, retinopatía, nefropatía, hígado graso, macroangiopatía, gastroparesia diabética, cetoacidosis diabética y coma diabético.

## V. CUCURBITACINAS COMO AGENTES CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA RELEVANTE POTENCIAL

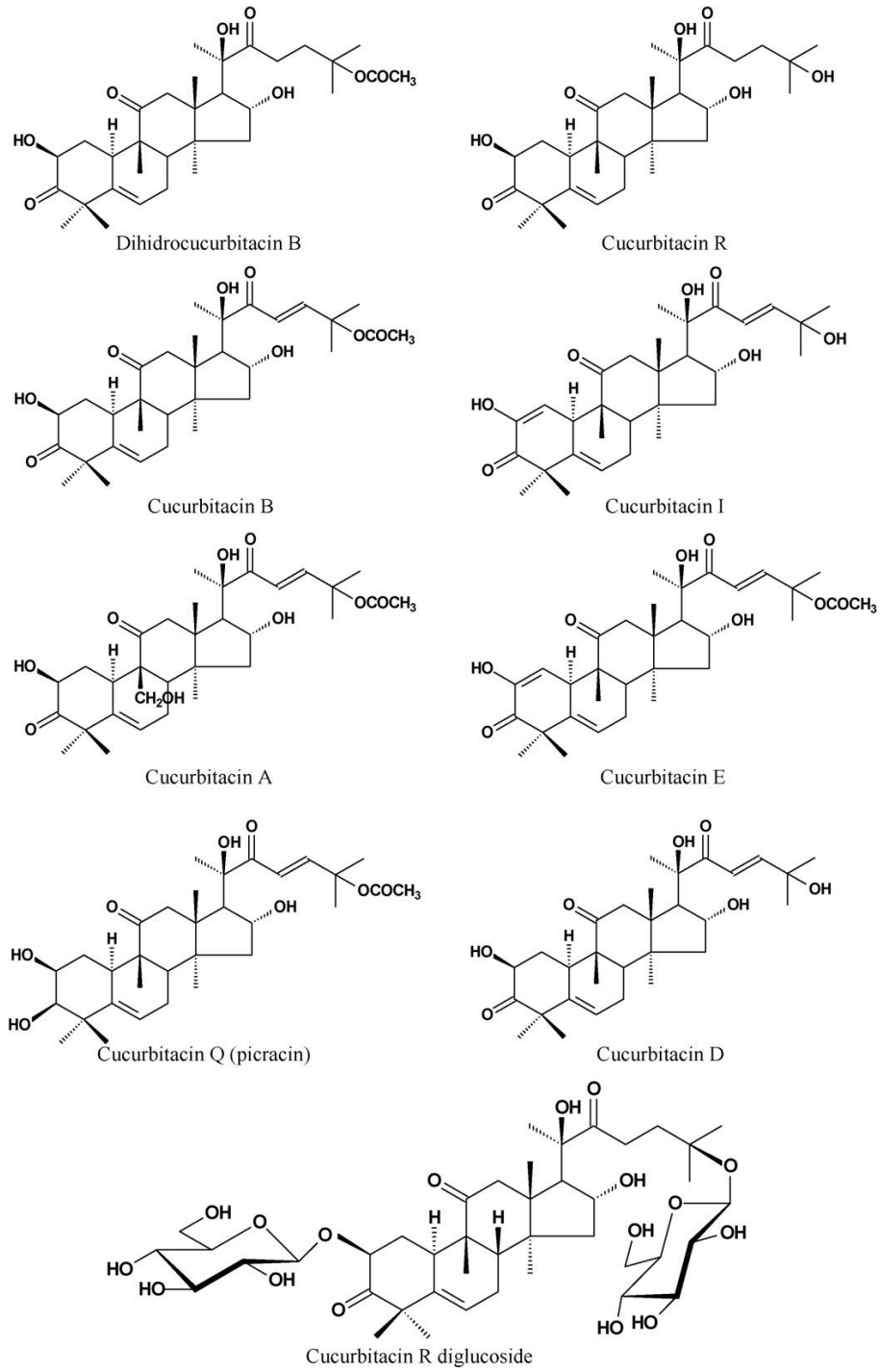
Se han aislado diversas cucurbitacinas de diferentes plantas, géneros y familias, con múltiple actividad biológica.

Weckert, E. y cols en 1993 aislaron las kinoinas A, B y C de *Iberbillea sonora* (anteriormente *Maximowiczia sonora*), son glucósidos de cucurbitacinas [18,19].

Asimismo, los triterpenos, una de cuyas formas estructurales son las cucurbitacinas, están implicados en los mecanismos de acción y efectos farmacológicos de muchas plantas medicinales utilizadas en medicina popular contra las enfermedades del sistema inmunitario: antiinflamatorio (cáncer), antiviral, antimicrobiano, antitumoral e inmunomodulador. Sus efectos no siempre han sido claramente correlacionados y el número de compuestos realmente estudiado es limitado en comparación con el elevado número de principios que han sido aislados e identificados. Lanostanos, oleananos y cucurbitanos, son los grupos más interesantes, como dihidrocucurbitacina B y cucurbitacina R aislados de *Cayaponia tayuya* (Cucurbitaceae), inhiben la reacción inflamatoria,

reduciendo el edema y el infiltrado celular, en modelo de artritis en rata. Además se han estudiado las respuestas alérgicas *in vivo* y los efectos de los mediadores implicados en la respuesta inmune *in vitro*. Se analizaron los efectos de los triterpenoides sobre las reacciones de hipersensibilidad Tipo I, la retardada, sus efectos inmunosupresivos, inmunoestimulantes y su actividad adaptogénica. Se refieren también a las cucurbitacinas A, B, D, E, I, R y Q. Como se mencionó antes, se sabe que la dihidrocucurbitacina B inhibe la proliferación de fitohemaglutinina A (PHA) en los linfocitos T humanos estimulados, interrumpiendo el ciclo celular en la fase G0 [20].

Así, los triterpenos constituyen uno de los grupos más interesantes de productos naturales debido a su alto potencial como agentes farmacológicos. Generalmente están presentes en plantas usadas como etnomedicinas, como *Astragalus membranaceus*, *Boswellia serrata*, *Cayaponia tayuya*, *Ganoderma lucidum*, *Panax ginseng* o *Tripterygium wilfordii*. Muchos de estos compuestos pueden ser utilizados directamente como compuestos activos o modificados para aumentar su selectividad y potencia [20].



**Fig. 1. Estructura química de cucurbitacinas activas.**

## **VI. METABOLITOS SECUNDARIOS DE ORIGEN VEGETAL CON ACTIVIDAD ANTIHIPERGLUCEMIANTE**

Las terapias actuales para el tratamiento de la diabetes incluyen insulina así como diversos agentes antidiabéticos orales, tales como sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la  $\alpha$ - glucosidasa y glinidas que se utilizan como monoterapias o en combinación para lograr una mejor regulación.

Los agentes farmacológicos con el mayor efecto sobre la hiperglucemia posprandial incluyen insulina lispro, análogos de amilina y los inhibidores de la  $\alpha$ - glucosidasa [44].

En la hiperglucemia asociada con la diabetes, el uso de inhibidores de la aldosa reductasa se ha utilizado para el tratamiento de complicaciones diabéticas. La aldosa reductasa es una enzima clave en la vía de los polioles, la cual cataliza la reducción de la glucosa a sorbitol. Sin embargo el sorbitol realmente no se difunde a través de las membranas celulares y la acumulación intracelular de éste alcohol se ha implicado en las complicaciones crónicas de la diabetes como la neuropatía periférica, retinopatía y cataratas. Un estudio reciente informó que la aldosa reductasa puede estar involucrada con otra señal vía de transducción en la patogénesis de la nefropatía diabética [44].

Desafortunadamente casi todos los agentes antidiabéticos orales tienen una serie de efectos adversos graves. Por lo tanto, la investigación en diabetes, para generar sustancias sin efectos secundarios sigue siendo un reto. Así, la búsqueda de agentes hipoglucemiantes más eficaces y más seguros ha continuado siendo un área importante de investigación [44].

Una posibilidad para obtener nuevos fármacos antidiabéticos la constituye el área de los productos naturales. Por ejemplo, se conoce que existen numerosas especies vegetales que son la base para los tratamientos tradicionales de la diabetes. No obstante lo anterior y en contra de las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud de 1980, pocas especies utilizadas como agentes antidiabéticos tradicionales han recibido un escrutinio científico o médico.

Existen a nivel mundial alrededor de 410 plantas medicinales que experimentalmente han probado tener propiedades antidiabéticas. Sin embargo solo de 109 se conoce el mecanismo de acción. Entre los varios mecanismo se incluyen: la modulación de la glicolisis, la alteración del ciclo de Krebs, la modulación de la glucogénesis, el cierre de la vía de HMP, la síntesis del glicógeno y su

degradación, la síntesis del colesterol, el metabolismo de los carbohidratos y su absorción, y la síntesis y liberación de la insulina [43].

Adicionalmente, una revisión de la literatura a nivel mundial señaló a las especies: *Gentiana Olivieri* Griseb (Gentianaceae), *Bauhinia forficata koeingii* (Leguminosae), *Eugenia jambolana* L. (Myrtaceae), *Lactuca indica* L. (Compositae), *Mucuna pruriens* Bak. (Leguminosae), *Tinospora cordifolia* W. (Menispermaceae), *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), *Aporosa lindleyana* Baill (Euphorbiaceae), Cogent db, *Myrtus communis* L. (Myrtaceae), Rhizoma Polygonati Odorati (Liliaceae), and *Terminalia pallida* Brand. (Combretaceae) como las más conocidas como agentes antihiper glucemiantes. Entre estas las especies *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), *Pterocarpus marsupium* Roxb. (Leguminosae) y *Trigonella foenum graecum* L. (Leguminosae) han demostrado ser beneficiosas para el tratamiento de la diabetes tipo 2. Con respecto a *M. charantia* se ha informado que el péptido charantin aislado de esta especie regula la glicólisis y el ciclo de Krebs. Igual actividad se informó para el momordicósido, un glicósido de cucurbitacina presente en *M. charantia* [43].

Adicionalmente, cuatro glucósidos del tipo cucurbitano, los momordicósidos Q, R, S, y T, así como el karavilósido XI, aislados de la *Momordica charantia*, y sus agliconas exhibieron un número de efectos biológicos beneficiosos a la diabetes y la obesidad. Por ejemplo, tanto en los miotubos L6 como en los adipocitos 3T3-L1, estos compuestos estimularon la translocación del GLUT4 a la membrana, un paso esencial para la célula, ya que permite la entrada de glucosa en las células. Esto se asoció con un aumento de la actividad de la proteína activada por AMP quinasa (AMPK), un mediador clave en la vía de la captación de glucosa y la oxidación de ácidos grasos. Además, los momordicosidos incrementaron la oxidación de ácidos grasos y la disposición de la glucosa en las pruebas de tolerancia a la glucosa, tanto en los ratones insulina-sensibles como los resistentes a esta proteína. Estos hallazgos indican que los triterpenoides del tipo cucurbitano, constituyentes característicos de la *M. charantia*, pueden proporcionar una nueva clase de agentes terapéuticos para la diabetes y la obesidad [43].

#### SEIS PÁRRAFOS SIN CITA

Adicionalmente se mencionan cuatro plantas de la familia Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad que contiene glucósidos y saponina con efecto insulínico; *Coccinia indica* Wight & Arn. Ésta suprime la síntesis de glucosa a través de deprimir la G-6-fosfatasa; además, tiene un efecto secretagogo de insulina. Es notable que *Momordica cymbalaria* Fenzl ex Naudin es una de las pocas

plantas estudiadas clínicamente en humanos mediante ensayo doble ciego. Esta especie mostró efecto antihiper glucémico en diabéticos; actuando por un incremento del glucógeno hepático [21].

Asimismo, se han aislado cucurbitacinas a partir de *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa* and *Gurania subumbellata* [22] y glucósidos de cucurbitacina novedosos como la arvenina de la *Anagallis arvensis* L. (Primulaceae) [23] y otros glucósidos de cucurbitacinas como el dammarano de *Neosalsomitra integrifoliola* [24].

Entre las plantas con datos etnofarmacológicos, fitoquímicos y de investigación clínica actuales en la literatura científica, ampliamente usadas y mejor conocidas en México, destacan: *Cecropia obtusifolia* Bertol (Cecropiaceae); *Equisetum myriochaetum* Schlecht & Cham (Equisetaceae); *Acosmium panamense* (Benth.) Yacolev (Fabaceae); *Agarista mexicana* (Hemsl.) Judd (Ericaceae); *Brickellia veronicaefolia* (Kunth) A. Gray (Asteraceae); *Parmeniera aculeata* (Kunth) Seem (Bignoniaceae) y *Cucurbita ficifolia* Bouché (Cucurbitaceae) [25], ésta denominada comúnmente chilacayote, muy conocida en todo México, acompañante común de los cultivos de maíz, frijol y calabaza, utilizada como alimento en diversas formas y para el tratamiento de la diabetes mellitus.

El panorama de las plantas medicinales antidiabéticas en México se completa con las revisiones diversas realizadas por Martínez, 1954, Díaz, 1976, Aguilar et al., 1994, Argueta, 1994, y Aguilar y Xolalapa, 2002 mencionadas por Andrade y Heinrich en 2005, quienes han documentado, para México, al menos 306 especies de 235 géneros y 93 familias, usados como “antidiabéticos”. Las familias más comúnmente mencionadas son: Asteraceae, 47 sp.; Fabaceae, 27; Cactaceae, 16; Solanaceae y Euphorbiaceae, 10 cada una; Lamiaceae, 9 y Cucurbitaceae, 6. En la Tabla 1 se muestran los estudios biológicos hechos y la cantidad de metabolitos secundarios detectados en las familias anteriores de plantas hipoglucemiantes [25].



Tabla 1. Análisis de plantas medicinales mexicanas [25].

Familia	n	Estudios biológicos (EB)		Metabolitos secundarios (MS)
Asteraceae	47	Si: 15 No MS	Animales hipoglucemia	69 plantas 1 MS
Fabaceae	27	Si: 24 Si MS	24 conejo normal	60 plantas 2 MS
Cactaceae	16	No: 114 Si MS	1 ratón normal	13 plantas 3 MS
Solanaceae	10		1 perro normal	3 plantas 4 MS
Euphorbiaceae	10		16 ratón DM alloxana	
Laminaceae	9			
Cucurbitáceae	6			

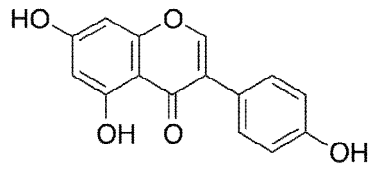
En la tabla 1 puede observarse que en la familia Asteraceae hay 15 plantas que tiene estudios biológicos (EB) pero no metabolitos secundarios (MS). En la familia Fabaceae se mencionan 24 plantas que tienen EB y MS. Entre las Cactáceas existen 114 plantas que no tienen EB, pero si MS. Los estudios realizados en animales: 24 fueron pruebas de reducción de glucemia en conejo normal, una en ratón normal, una en perro normal, y 16 pruebas en ratones con DM por alloxana. Respecto a los MS, hay 69 plantas en que se menciona un solo MS, 60 plantas en la que se mencionan dos MS, 13 en que se nombran tres MS, y tres con hasta cuatro MS conocidos.

La mayoría de las plantas sólo tiene datos empíricos de uso contra la “diabetes mellitus” en la medicina tradicional, pero carecen de estudios en animales de laboratorio, y ninguna menciona haber sido realizado en seres humanos, excepto las cinco primeras que se analizan en el artículo de Andrade y Heinrich, y sólo dos plantas de éstas contienen cucurbitacinas (Tabla 2); hay cinco plantas de la familia Cucurbitácea y una de la familia Berberidaceae que contiene cucurbitacinas. Además, menciona la *Ibervillea sonora*, de la que otros investigadores aislaron las kinoínas A, B, C [18,19]. Vale destacar que las cinco plantas más estudiadas sólo *Cucurbita ficifolia* Bouché (llamada Chilacayote) es de la familia Cucurbitaceae, y en ninguna se encontraron cucurbitacinas entre sus MS; otros son los responsables de la actividad hipoglucemiante detectada, como las lectinas RLA(1), RLA(2), RLA(3), en el Chilacayote.

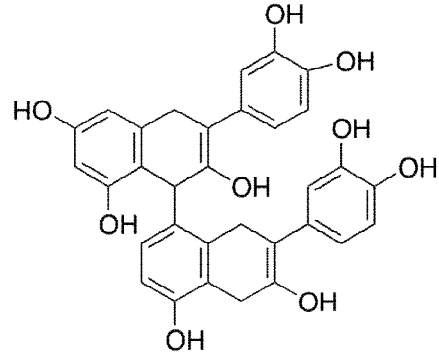
Tabla 2. Plantas de la familia Cucurbitaceae y otra que es fuente de cucurbitacinas [25].

Nombre científico	Nombre común	Familia	Parte de planta. Preparación	Estudios farmacológicos	Metabolitos secundarios
<i>Cucurbita maxima</i> Duchesne	Calabaza	Cucurbitaceae	Fruta jugo		Esteroles, flavonoides
<i>Cucurbita mexicana</i> Damm	Calabaza, Melón	Cucurbitaceae	Hojas infusión, fruta jugo	Conejo normal (++)	
<i>Melothria pendula</i> L.	Sandiita	Cucurbitaceae	Planta (aérea) infusión		
<i>Momordica charantia</i> L.	Cunde- amor,	Cucurbitaceae	Hojas en infusión		Terpenos, esteroides, flavonoides
<i>Berberis moranensis</i> Schult. & Schult. f.	Palo muerto	Berberidaceae	Corteza. Infusión		Cucurbitacinas
<i>Apodanthera buraeavi</i> Cogn.	Pisto	Cucurbitaceae	Planta (aérea) infusión		cucurbitacinas

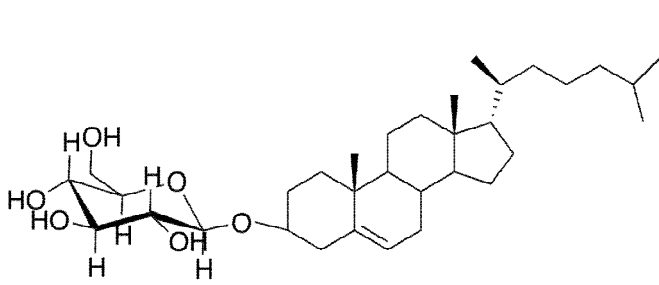
El  $\beta$ -sitosterol, responsable del efecto hipoglucemiante de *Azadirachta indica* (figura 2) [21] está presente en *Cecropia obtusifolia* Bertol. (Cecropiaceae) y *Equisetum myriochaetum* Schlecht & Cham (Equisetaceae) [25] lo cual pudiera explicar en parte su actividad reductora de la glucemia.



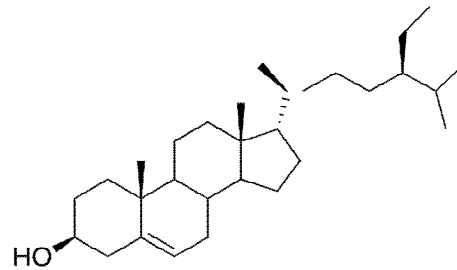
Genisteina



Proantociadina



Charantina



$\beta$ -sitosterol

Figura 2. Genisteina (isoflavona), proantociadina (polifenol), Charantina (glucosido de esterol),  $\beta$ -sitosterol (esterol)

Numerosos remedios herbarios usados hoy en día no se han sometido a una cuidadosa evaluación científica y algunos tienen el potencial para causar graves efectos tóxicos y mayor interacción con medicamentos. Es necesario continuar investigando para elucidar las actividades farmacológicas de los remedios herbolarios utilizados para tratar la diabetes mellitus.

No obstante que muchas plantas mencionadas sólo tienen el dato etnobotánico y carecen de estudios biológicos y químicos, la revisión de Andrade y Heinrich [25] es muy relevante, entre otros aspectos, porque señala caminos por explorar y, ciertamente, en exploración.

Otros investigadores utilizando extractos de diferentes plantas llamadas copalchis mexicanos, *Hintonia latiflora*, *Exostema caribaeum*, y una mezcla comercial de *Hintonia standleyana* y *E. caribaeum*, mostraron efectos hipoglucémico y antihiper glucemiante significativos, en modelos animales, e identificaron la dihidrocucurbitacina F de *H. latiflora* y *H. standleyana*. La *H. latiflora*, mostró causar menor pérdida de peso que glibenclamida y regula el metabolismo y los niveles de glucógeno hepático y de la insulina en plasma, al estimular su liberación. Además, tienen efecto antiplasmódico y antimicrobiano y las cucurbitacinas aisladas de *H. standleyana* tienen efecto antinociceptivo, en ratones [26,27].

Aunque en el presente no hay una cura para la diabetes, ésta puede ser manejada mediante el tratamiento con algunos tipos de fármacos antidiabéticos. Hay disponibles medicamentos para reducir el nivel de glucosa en la sangre en la diabetes tipo 2, pero la mayoría de estos productos tienen efectos colaterales negativos después de uso prolongado. En consecuencia, la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, incluyendo plantas medicinales que han sido usadas en la medicina folklórica, no sólo se justifica sino que se ha incrementado significativamente en años recientes.

En la medicina tradicional mexicana, hay aproximadamente 306 especies de plantas que han sido usadas como remedios hipoglucemiantes [25]. Una de estas plantas es *Ibervillea sonorae*, coloquialmente conocida como “Wereke”, la cual es ampliamente recomendada como agente hipoglucemiante [28, 29], antibiótico [30], antiobesidad [31] y antirreumático en la medicina folklórica. Estudios previos con *I. sonorae* revelaron efectos antivirales, antifúngicos [30] e hipoglucemiantes [31]. Adicionalmente, se ha reportado que el extracto de diclorometano, de sus raíces, tiene acción hipoglucemiante en ratones sanos y en aquellos con diabetes inducida por alloxana [32].

Además de la *Ibervillea sonorae*, otras seis especies del género *Ibervillea* crecen en México [33]. Una de esas especies es *I. lindheimeri*, la cual tiene raíces que al secarse y molerse tiene sabor extremadamente amargo, similar al de la planta medicinal *I. sonorae*. Tal similitud en aspecto y sabor hace que fácilmente se confundan. Sin embargo, debido a su importancia en la Medicina Tradicional Mexicana la *I. sonorae* es la única especie que ha sido estudiada desde el punto de vista químico; sus resultados mostraron que esta planta sintetiza principalmente triterpenos de tipo cucurbitano, conocidas como kinoinas [18,19].

Considerando lo anterior y con el propósito de valorar las supuestas actividades terapéuticas de *I. lindheimeri*, decidimos evaluar las propiedades hipoglucemiantes tanto de extractos como de metabolitos secundarios presentes en ésta especie.

## **VII. HIPÓTESIS**

Se conoce de las propiedades de la *Ibervillea sonora* (wereque) en la medicina tradicional como remedio contra la diabetes, entonces es factible que la *Ibervillea lindheimeri* también pudiese tener propiedades antihiperoglucemiantes.

## **VIII. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO PRINCIPAL**

Evaluar las posibles actividades antihiperoglucemiantes de extractos y metabolitos secundarios provenientes de *Ibervillea lindheimeri*.

### **OBJETIVOS SECUNDARIOS.**

Obtener extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de la raíz de *Ibervillea lindheimeri*, y evaluar su actividad antihiperoglucemiante.

Aislar los metabolitos secundarios más abundantes en la raíz de *Ibervillea lindheimeri* y evaluar su actividad antihiperoglucemiante.

## **IX. PARTE EXPERIMENTAL**

### **A. MÉTODOS GENERALES**

Como técnica de separación y purificación se utilizó la cromatografía en columna abierta (CCA) eluída con vacío y empacada con gel de sílice (MN-Kieselgel G 60, MERCK®), malla 70-230. Se utilizó una relación de 10 g de sílice por cada 1 g de mezcla a separar. En todos los casos se eluyó primero con hexano y se aumentaba gradualmente la polaridad del eluyente con mezclas de hexano-acetato de etilo hasta eluir con acetato de etilo y terminar con metanol.

El análisis cromatográfico en capa fina se realizó en folios de aluminio cubiertos con gel de sílice (ALUGRAM® SILG/UV<sub>254</sub>) y se reveló con luz UV (254 y 365 nm) y sulfato cérico (Ce<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 1% en ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), seguido de calentamiento.

Se realizaron análisis cromatográficos por medio de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) acoplada a un espectrómetro de masas marca Bruker serie Esquire modelo 6000 con fuentes de ionización (APCI o ESI).

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Fisher-Johns y se reportaron sin corrección.

Los espectros de IR fueron obtenidos con un espectrofotómetro Nicolete modelo Magna 750, mediante las técnicas de pastilla en KBr, disolución y película.

La Espectrometría de Masas fue generada por los equipos Hewlett-Packard® modelo JEOL AX505 y JEOL SX102.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear protónica RMN (<sup>1</sup>H) y de carbono 13 (<sup>13</sup>C) fueron obtenidos mediante los espectrómetros Varian Gemini XL-200 y Varian VXR-300. Se emplearon disolventes deuterados ALDRICH®: Cloroformo (CDCl<sub>3</sub>) y benceno (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>). Los desplazamientos químicos se reportan en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS). Los experimentos adicionales de RMN incluyeron DEPT, COSY, HETCOR y HMBC.

### **B. MATERIAL VEGETAL**

Las raíces de *I. lindheimeri* se colectaron cerca de La Estación Peña Blanca, Municipio de Peña Miller, en el Estado de Querétaro, México, por Figueroa-Hernández J.L., en junio del 2007 y fueron identificadas por el Dr. Rafael Lira. Un espécimen de herbario (MEXU 111000) fue depositado en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, México.

### **C. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS**

La corteza de la raíz de *I. lindheimeri* (1777 g) seca y molida fue extraída sucesivamente, a temperatura ambiente, con hexano, acetato de etilo y metanol. La destilación a presión reducida de los disolventes permitió la obtención de 8.8 g (0.5%), 30.2 g (1.7%) and 37.3g (2.1%) de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol, respectivamente. Los extractos se mantuvieron a 4°C hasta ser utilizados.

### **D. ANIMALES EXPERIMENTALES**

Se utilizaron ratones machos CD-1, donados por la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Autónoma de México, de 60 a 65 días de edad, con peso corporal entre 22 y 28 g. Los procedimientos que implicaron el uso de animales y su cuidado fueron realizados con base en la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y manejo de los animales [34] y acorde con las normas internacionales respecto al cuidado y uso de animales de laboratorio. Los animales fueron mantenidos bajo las condiciones estándar del laboratorio y bajo una dieta estándar con pellets (Purina) y agua potable *ad libitum*. Los ratones fueron colocados seis por jaula de acrílico con cama de viruta de madera procesada y fueron puestos en condiciones de ayuno 12 h antes del experimento, permitiéndoles el acceso sólo al agua; durante el experimento fueron privados de agua y alimento.

#### **Evaluación de la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>)**

El extracto de acetato de etilo de la corteza, el cual mostro actividad reductora de la glucemia, tuvo una DL<sub>50</sub> de 557 mg/kg.

La fracción del extracto de acetato de etilo, soluble en acetato de etilo nominada EEE fue más tóxica ya que mostró una DL<sub>50</sub> de 55 mg/kg, sin embargo su efecto antihiperglucemiante se obtuvo con 30 mg/kg/ip, sin que muriera animal alguno [35].

### **E. INDUCCIÓN DE DIABETES EXPERIMENTAL**

La diabetes mellitus (DM) fue inducida en los ratones mediante una inyección intraperitoneal (ip) de estreptozotocina (STZ, Sigma Chemical Co, St. Louis MO, USA.) en dosis de 50 mg/kg de peso

corporal, cada 24 h, durante 3 días, disuelta en buffer de citrato 0.1 M, a pH 4.5 y administrada en un volumen de 0.1 ml/10 g de peso corporal (1 ml/kg). Siete días después de la administración de la STZ, se determinaron los niveles de glucosa sanguínea en cada uno de los ratones. Aquellos animales con valores de glucemia igual o mayores a 200 mg/dL se consideraron diabéticos y fueron incluidos en el estudio. Como fármaco hipoglucemiante de referencia (estándar interno) se utilizó la glibenclamida en dosis de 10 mg/kg/ip (Sigma Co, St. Louis MO, USA.), en un volumen de 0.1 ml/10 g de peso corporal. La glucemia fue determinada utilizando el método enzimático de la glucosa oxidasa peroxidasa, mediante tiras reactivas de laboratorio (Sensor confort, Roche Diagnostics) midiendo la densidad óptica con glucómetro electrónico (Accucheck, Roche Lab. Mannheim, Germany).

## **F. ENSAYO BIOLÓGICO**

La actividad de los extractos y de los metabolitos secundarios (cucurbitacinas **1–3**) sobre la glucemia fue evaluada en ratones sanos y ratones diabéticos por STZ (Sigma Chemical, Co. St. Louis MO, USA). Se conformaron grupos de seis animales cada uno. Los animales fueron tratados con los extractos en diferentes dosis ip utilizando como solvente aceite de maíz más dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma Chemical, Co St. Louis MO, USA.), en un volumen de 0.1 ml/10 g de peso corporal. Los MS fueron suspendidos en 0.05% de tween 80 (Sigma Chemical, Co. St. Louis MO, USA), en solución salina. Uno de los grupos utilizado como control recibió sólo aceite de maíz más DMSO o solución salina.

Las muestras de sangre (aproximadamente 0.01-0.03 ml) se obtuvieron por amputación de 1-2 mm del extremo terminal de la cola del ratón. Los niveles de glucosa sanguínea se determinaron a las 0, 1, 3 y 6 h después de la administración de los extractos o de los MS.

### **Detección y Aislamiento de los metabolitos secundarios más abundantes**

El extracto de *n*-hexano (8.8 g) fue analizado por medio de la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas, acoplados (CG-EM). Se utilizó un espectrómetro de masas JMS-AX505HA (JEOL) acoplado a un cromatógrafo GC Hewlett Packard 5890 Series II equipado con una columna capilar ultra 2 (Metilfenilo al 5 % entrecruzada con silicona (25 m X 20 mm i. d. X 0:33 µm film). La temperatura de la fuente iónica fue de 300°C. El potencial de aceleramiento e ionización fueron de 3 kV y 70 eV, respectivamente. La temperatura de horno de la columna fue programada de la siguiente forma: temperatura inicial 40 °C (1 min) seguido por un incremento de temperatura de 7 °C por min hasta 300°C. La cuantificación de los componentes se realizó con base en las aéreas de los diferentes



picos, sin la corrección por factores de respuesta. Los constituyentes fueron identificados por comparación de sus espectros de masas informados en la literatura así como la biblioteca de datos del Instituto de Estándares y Tecnología (NIST 3.0). Los resultados se muestran, más adelante, en la tabla 7.

Una alícuota de la fracción soluble en acetato de etilo, obtenida del extracto de acetato de etilo de *I. lindheimeri* (EEE) (15 g), fue separada utilizando una columna de cromatografía abierta (CCA). De la fracción eluída con la mezcla *n*-hexano:acetato de etilo (2:3) se aisló un sólido amorfo. La purificación de este sólido produjo 41.5 mg de 23-24-dihidrocucurbitacina F (**2**) y 320 mg de una mezcla de sólidos. La purificación de esta última masa de sólidos por medio de CCA, al ser eluída con la mezcla *n*-hexano:acetato de etilo (2:3) produjo 35 mg de 23-24-dihidrocucurbitacina D (cucurbitacina R) (**1**). A partir de la CCA del extracto EEE, eluída con acetato de etilo, se aislaron 34 mg de 2-(*O*-β-D-glucopiranosil)-23-24-dihidrocucurbitacina F (**3**). La identificación de **1-3** se logró mediante la comparación de sus datos físicos y espectrales con los datos publicados (Fig. 3). [23,24, 26,27]

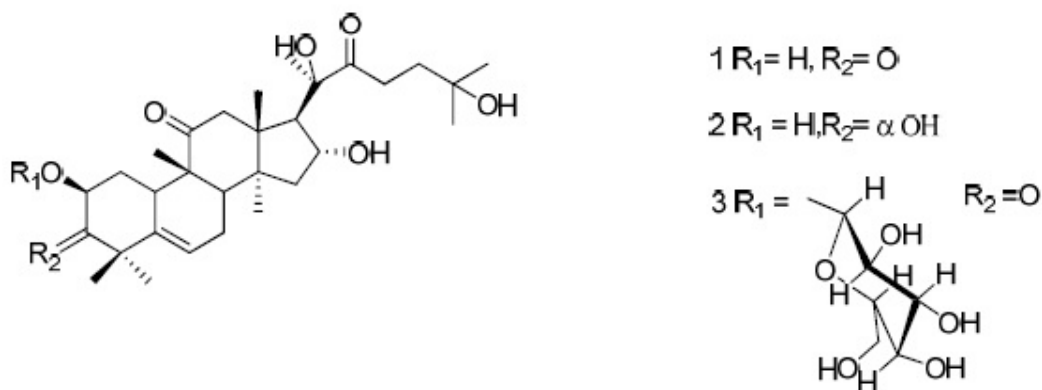


Figura 3. Estructura de las cucurbitacinas **1-3** de *I. lindheimeri*.

## X. RESULTADOS

Aunque los extractos de *n*-hexano, acetato de etilo y metanol se ensayaron como agentes hipoglucémicos, sólo el extracto de acetato de etilo (EE) mostró una reducción de los niveles de glucosa en sangre en ratones sanos. Sin embargo, la toxicidad de este extracto fue evidente; en dosis de

100 y 50 mg/kg, todos los animales experimentales murieron, aunque la muerte ocurrió en diferentes momentos después de la administración de EE (Tabla 3). La toxicidad de la EE por el procedimiento Lorke [35] mostró una  $DL_{50}$  de 39,37 mg/kg.

Tabla 3. Efecto del extracto de acetato de etilo, en relación de dosis usada, en los niveles de glucosa en ratones CD-1 sanos y en ayunas.

	Glucosa en sangre [mg/DL]			
	0 h	1 h	3 h	6 h
Control (vehículo)	77.6±8	76.6±7	78.1±8	87.1±5
EE extracto ip				
25 mg/kg	73.1±7	69.1±5	54.6±6*	42.1±6*
50 mg/kg	73.3±9	67±10	30±10*	22.3±9*
100 mg/kg	78.3±12	65.8±10	18±4*	15±3*

Cada valor es la media ± desviación estándar para  $n = 6$  ratones en cada grupo. Valores de \*  $P < 0,05$  fueron significativamente diferente por ANOVA seguido por la prueba de Dunnett

A la dosis de 100 mg/kg, todos los animales murieron 24 h después de la administración de EE. A la de dosis de 50 mg/kg, 50% de los ratones murió 48 h después de la administración de EE. Mientras que a la dosis de 25 mg/kg 2 animales murieron 48 h después de la administración de EE.

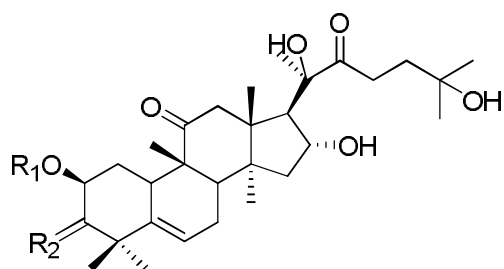
Tomando en cuenta estos resultados se decidió tratar sucesivamente éste extracto con *n*-hexano, acetato de etilo y metanol para dar las fracciones EEH, EEE y EEM, respectivamente. Sin embargo, sólo EEE causó una disminución significativa en los niveles de glucosa sanguínea en los ratones. Aunque EEE mostró una toxicidad más baja que la de la EE, sin embargo, a la dosis de 150 mg/kg de EEE, y 7 horas después de la administración del extracto todos los animales murieron. A la dosis de 75 mg/kg, todos los animales murieron 24 horas después de la administración del extracto. Sin embargo, a la dosis de 37,5 mg/kg, no se observó la muerte 7 días después de la administración (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de la fracción EEE del extracto de acetato de etilo, en relación de dosis usada, en los niveles de glucosa en ratones CD-1 sanos y en ayunas.

Grupo	Glucosa en sangre [mg/DL]			
	0 h	1 h	3 h	6h
Control (vehículo)	52±3	62±16	58±10	48±9
EEE extracto ip				
37.5 mg/kg	60±9	64±9	55±12	34±9*
75.0 mg/kg	66±11	69±13	30±10*	23±10*
150 mg/kg	85±10	33±12*	16±7*	15±4*

Cada valor es la media ± desviación estándar para  $n = 6$  ratones en cada grupo. Cada valor \*  $P < 0,05$  se determinó que era significativamente diferentes por ANOVA seguido por la prueba de Dunnett

La separación cromatográfica del EEE permitió la obtención de la 23, 24-dihidrocucurbitacina D (**1**), la 23, 24-dihidrocucurbitacin F (**2**), y la 2-*O*-β-D-glucopiranosil-23, 24-dihidrocucurbitacin F (arvenina IV) (**3**). Los compuestos **1–3** se identificaron por comparación de sus datos espectroscópicos con los de la literatura (Fig. 4) [22-24].



- 1  $R_1 = H, R_2 = O$
- 2  $R_1 = H, R_2 = \alpha OH$
- 3  $R_1 = -\beta-D-glucopiranosil, R_2 = O$
- 4  $R_1 = H, R_2 = -O-\beta-D-glucopiranosil, H\alpha$

Figura 4. Estructura de las cucurbitacinas **1–3** aisladas de *I. lindheimeri*, y del glicósido **4** aislado de *Hintonia standleyana*

Teniendo en cuenta que el extracto EEE, el cual contiene las cucurbitacinas **1–3** no indujo la muerte de ningún animal a 37,5 mg/kg, y suponiendo que un compuesto puro puede ser más potente, se decidió evaluar los compuestos **1–3** a la dosis de 25 mg/kg. Todas las cucurbitacinas ensayadas produjeron una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre en ratones con diabetes inducida por STZ. El triterpeno **1** disminuyó el nivel de glucosa en sangre por 70,8% en comparación con el grupo de control, mientras que los triterpenos **2** y **3** redujeron este nivel por 64,5% y 65,5%, respectivamente, cuando se midió 6 horas después de la administración de extracto (Tabla 5). No se

observó la muerte de animales 7 días después de la administración de **1–3**. Las pequeñas cantidades disponibles de los compuestos aislados no permitieron la determinación de los valores de DE<sub>50</sub>.

Tabla 5. Actividad de **1 – 3** en los niveles de glucosa en sangre en ratones CD-1 diabéticos (STZ) en ayunas.

Grupo	Glucosa en sangre [mg/DL]			
	0 h	1 h	3 h	6 h
Control (vehículo)	296 ±85	252±65	194±46	189±31*
Glibenclamida (10 mg/kg/ip)	255±10	177±13.3	75±13.67*	50±8.8*
Extracto (30 mg/kg/ip)	201±29.8	224±55.7	138±44*	86±25.5*
Compuesto (25 mg/kg ip)				
<b>1</b>	373±33	217±36*	64±13*	55±11*
<b>2</b>	296±33	295±23	169±26*	65±15*
<b>3</b>	210±37	180±31	100±25*	67±18*

Cada valor es la media ± desviación estándar de  $n = 6$  ratones en cada grupo. \*  $P < 0,05$  se determinó que era significativamente diferente por ANOVA seguido por la prueba de Dunnett.

Sin embargo, a las mismas dosis, ninguno de los compuestos demostró actividad hipoglucemiante cuando se administraron a ratones en ayunas normales (Tabla 6).

Tabla 6. Actividad del extracto y los compuestos **1-3** en los niveles de glucosa en la sangre en ratones CD-1 sanos en ayunas.

Grupo	Glucosa en sangre [mg/DL]			
	0 h	1 h	3 h	6 h
Control (vehículo)	63 ±3	67±7	64±6	63±7
<b>Compuesto (25 mg/kg pc/ip)</b>				
<b>1</b>	68±6	77±7	57±9	50±8
<b>2</b>	60±5	62±6	40±10*	57±14
<b>3</b>	74±5	91±13	53±8	60±12

Cada valor es la media ± desviación estándar para  $n = 6$  ratones en cada grupo. \*  $P < 0,05$  se determinó que era significativamente diferente por ANOVA seguido por la prueba de Dunnett.

Por otro lado, con el fin de aportar más datos para la caracterización química de *Ibervillea lindheimeri* se analizó el extracto de *n*-hexano mediante cromatografía de gases acoplada a un espectro de masas. En la tabla 7 se observan los compuestos más abundantes donde resalta la presencia de ácidos grasos de cadena larga así como esteroides.

Tabla 7. Constituyentes detectados por CG/EM en *Ibervillea lindheimeri*

No.	Tiempo de retención	Compuesto	Área %	Peso molecular	Fórmula
1	20.15	Ácido palmítico	6.18	270	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
2	22.43	Ácido linoleico	8.75	280	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
3	22.52	(Z)6, (Z)9-pentadecadien-1-ol	6.90	224	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O
4	22.70	Ácido Octadecanoico, 2-(2-hidroxietoxi) etil éster	5.45	372	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>
5	32.34	Ergosta-4,6,22-trien-3-ol (esterol)	4.55	396	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>
6	32.89	Estigmastan-3,5-dieno	21.05	396	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub>
7	33.05	Cycloeucalenol	7.47	426	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O
8	34.95	Condriasterol	9.54	412	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O
9	35.58	(3β,5α,24s)-Estigmast-7-en-3-ol	25.38	414	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O
10	35.79	Cicloartenol	4.68	426	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O

## XI. DISCUSIÓN.

Una búsqueda en la literatura científica reveló que el presente trabajo es el segundo informe sobre especies del género *Ibervillea*. Como antes se mencionó, la única especie que había sido químicamente estudiada es *I. sonora* la cual sintetiza triterpenos de tipo cucurbitano denominados kinoínas. Una característica estructural de estos compuestos es que las cucurbitacinas aisladas de *I. sonora* no presentan un sustituyente en el C-2 del anillo A. Por el contrario los compuestos **1–3** aislados de *I. lindheimeri* tienen un residuo hidroxilo en el C-2 del anillo A. Por ejemplo, la única diferencia estructural entre la kinoína B aislada de *I. sonora* y la 23,24-dihidrocucurbitacina D (**2**) aislada de *I. lindheimeri* es la presencia de un grupo hidroxilo en el C-2 en la cucurbitacina **2**.

La presencia de triterpenos tipo cucurbitano en *I. lindheimeri* está acorde con estudios previos donde indican que este tipo de metabolitos secundarios son típicos de la familia Cucurbitaceae.

Por otro lado, la distribución de los metabolitos secundarios sintetizados por estas dos especies de *Ibervillea* es completamente diferente. Por ejemplo, la 23,24-dihidrocucurbitacina F presente en *I. lindheimeri* es sintetizada también por varias especies de diferentes géneros de la familia Cucurbitaceae [36,37] e incluso por especies de otras familias, tal como la *Begonia heracleitolia* (Begoniaceae) [38]. En contraste, los kinoínas A, B y C han sido aisladas sólo de *I. sonora*.

Adicionalmente el análisis químico mediante GC-MS del extracto de hexano de *I. lindheimeri* demostró la presencia de esteroides y triterpenos, como se indica en la tabla 7.

Los compuestos **1–3** fueron evaluados como agentes antihiper glucémicos a la dosis de 25 mg/kg. Todas las cucurbitacinas evaluadas indujeron una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre en ratones diabéticos inducida por STZ. El triterpeno **1** disminuyó el nivel de glucosa en sangre por 70,8% en comparación con el grupo de control, mientras que **2** y **3** redujeron este nivel por 64,5% y 65,5%, respectivamente, cuando se midió 6 horas después de la administración de extracto (Tabla 6). No se observó la muerte de animales 7 días después de la administración de los compuestos **1–3**. Las pequeñas cantidades disponibles de los compuestos aislados no permitieron la determinación de los valores de DE<sub>50</sub>.

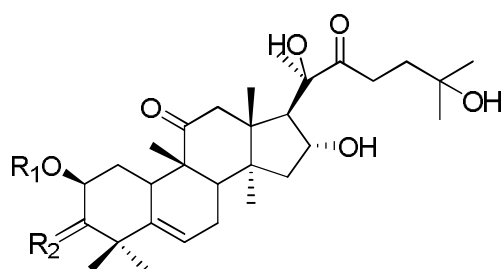
De acuerdo con nuestros resultados, la presencia de una cetona en C-3, como en **1** y **3**, o un residuo de alcohol, como en **2**, no es relevante para la actividad antihiper glucémica. Sin embargo, la comparación de la actividad de **1** y **3** a dosis molares reveló que la presencia de un residuo glucopiranosilo en C-2, como en **3**, es importante para el efecto antihiper glucémico.

Notablemente, a las mismas dosis, ninguna de las sustancias aislados demostró actividad hipoglucemiante cuando se administra a ratones en ayunas normales (Tabla 6).

Estos hallazgos indican que posiblemente las cucurbitacinas **1–3** sólo actúen en animales con función inadecuada de la insulina, ya sea por falta de producción de esta hormona o por su escasa interacción con sus receptores.

Aunque los compuestos de tipo cucurbitacina se han aislado de *I. sonorae*, la actividad hipoglucémica de esta especie se atribuyó a la mezcla de cinco ácidos grasos y once monoglicéridos [29]. Sin embargo, estudios previos han informado que cucurbitacinas, tales como la cucurbitacina B y la 3-*O*-β-D-glucopiranosil-23,24-dihidrocucurbitacin F (**4**), presentan actividad antihiper glucémica. Por ejemplo la 3-*O*-β-D-glucopiranosil-23,24-dihidrocucurbitacina F (**4**) indujo actividad antihiper glucémica significativa en dos experimentos subagudos de largo plazo: tanto en animales que estaban desarrollando diabetes así como en animales con diabetes inducida por STZ.

En ese experimento se utilizó una dosis baja de STZ que produjo una destrucción incompleta de β-células pancreáticas. Teniendo en cuenta lo anterior los autores propusieron que el posible efecto del glicósido **4** fue el aumento de la renovación de las β-células o permitir la recuperación de β-células parcialmente destruidas y por lo tanto estimular la secreción pancreática de insulina [27]. Curiosamente, en un trabajo anterior de los mismos autores mostraron que **4** sólo actuó en animales diabéticos y no en las ratas sanas [26]. Es notoria la estrecha relación estructural entre las cucurbitacinas **1–3** con el glicósido **4**, lo cual indica que el esqueleto 23,24-dihidro-2,16,21,25-tetrahidroxi-11, 22-diceto-cucurbi-5-eno es adecuado para una acción antihiper glucemiante.



1 R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= O

2 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub>= α OH

3 R<sub>1</sub> = -β-D-glucopiranosil R<sub>2</sub>=O

4 R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= -O-β-D-glucopiranosil, Hα

Figura 4. Estructura de las cucurbitacinas **1–3** de *I. lindheimeri*, y del glicósido **4** de *Hintonia standleyana*

Por otra parte, se ha informado que los cucurbitacinas momordicina II y kuguaglycosido T aislados de *M. charantia* mostraron la secreción de insulina *in vitro*.

Si bien existen numerosos informes que apoyan tanto *in vitro* como *in vivo* propiedades anti-diabéticas de las cucurbitacinas, no se conoce con certeza el mecanismo de acción de estos triterpenos. Uno, como ya se mencionó, es la posible liberación de insulina por estos triterpenos. Otra es la activación de la proteína activada por AMP (AMPK). Muchos estudios sugirieron que la AMPK activa, coordina una variedad de procesos metabólicos, la mayoría de los cuales conducen a la reducción de almacenamiento de energía y el aumento de la producción de energía. Por lo tanto, la activación de AMPK se considera como una posible diana terapéutica para el tratamiento de trastornos metabólicos. De manera interesante, se ha informado que varias cucurbitacinas tienen actividad en AMPK. Por ejemplo las cucurbitacinas: mogrol, 3-hidroximogrol y 3-hidroxi-25-deshidroxi-24-oxomogrol, todas aisladas de *Siraitia grosvenorii*, aumentan la fosforilación de AMPK [39]. Por otra parte, se ha informado de que 5 $\beta$ , 19-epoxi-25-metoxi-Cucurbita-6,23-dieno-3 $\beta$ , 19-diol, una cucurbitacina aislada de *M. charantia* posee múltiples funciones. Además de una actividad hipoglucémica en las células resistentes a la insulina y un activador de la AMPK, esta cucurbitacina también muestra un efecto anti-inflamatorio en las células tratadas de TNF- $\alpha$  [40]. En otro estudio, en la misma especie se demostró que las cucurbitacinas momordicosido S, karavilosido XI así como sus agliconas estimulan la translocación de GLUT4 tanto en microtúbulos L6 como en adipocitos 3T3-L1. Este efecto se asoció con un aumento en la actividad de la enzima AMPK [41].

Se sabe que en respuesta a la ingestión de alimentos, las células enteroendocrinas de la mucosa intestinal liberan hormonas como la GLP-1 que puede estimular la secreción de insulina desde el páncreas endocrino y de ese modo reducir la glucosa en sangre. Informes recientes indican que las cucurbitacinas aisladas de *M. charantia*, 19-nor-cucurbita-5-(10)- 6,8,22-(E)-pentaen,24-3 $\beta$ -ol, y 5 $\beta$ ,19-epoxycucurbita-6,24-dieno-3 $\beta$ ,23 $\xi$ -diol (karavilagenina E,) estimulan la secreción de GLP-1 [42].

En resumen hay información bibliográfica que demuestra que diferentes cucurbitacinas tienen propiedades antidiabéticas que apoyan nuestros hallazgos. Sin embargo, para aclarar el mecanismo por el que **1 – 3** produjeron su efecto hipoglucémico requiere más experimentos.



## **XII. CONCLUSIONES.**

El aislamiento de las cucurbitacinas **1 – 3** de la raíz de *Ibervillea lindheimeri* está de acuerdo con estudios previos que señalan que este tipo de metabolitos secundarios son típicos de las especies de la familia Cucurbitaceae. Sin embargo es notorio que las cucurbitacinas aisladas de *Ibervillea lindheimeri* tengan sustituyentes oxidados en la posición C-2 como varias otras especies de la familia Cucurbitaceae, mientras las cucurbitacinas aisladas de *I. sonorae* no presentan sustituyentes en C-2. Lo que marca una diferencia quimiotaxonómica entre estas dos especies del género *Ibervillea*.

Por otro lado el hallazgo de que los triterpenos **1 – 3** tengan actividad antihiper glucemiante en ratones diabéticos pero sean inactivos en ratones sanos indica que estos compuestos actúan en animales cuya función de la insulina es deficiente ya sea por falta de producción de ésta hormona o por su poca interacción con sus receptores. Igual comportamiento se observó con el glicósido **4**, lo que podría señalar que el esqueleto 23,24-dihidro-2,16,21,25-tetrahidroxi-11, 22-diceto-cucurbi-5-eno es adecuado para restituir las funciones de la insulina. Sin embargo se requieren de estudios posteriores para apoyar ésta propuesta.

### XIII. REFERENCIAS

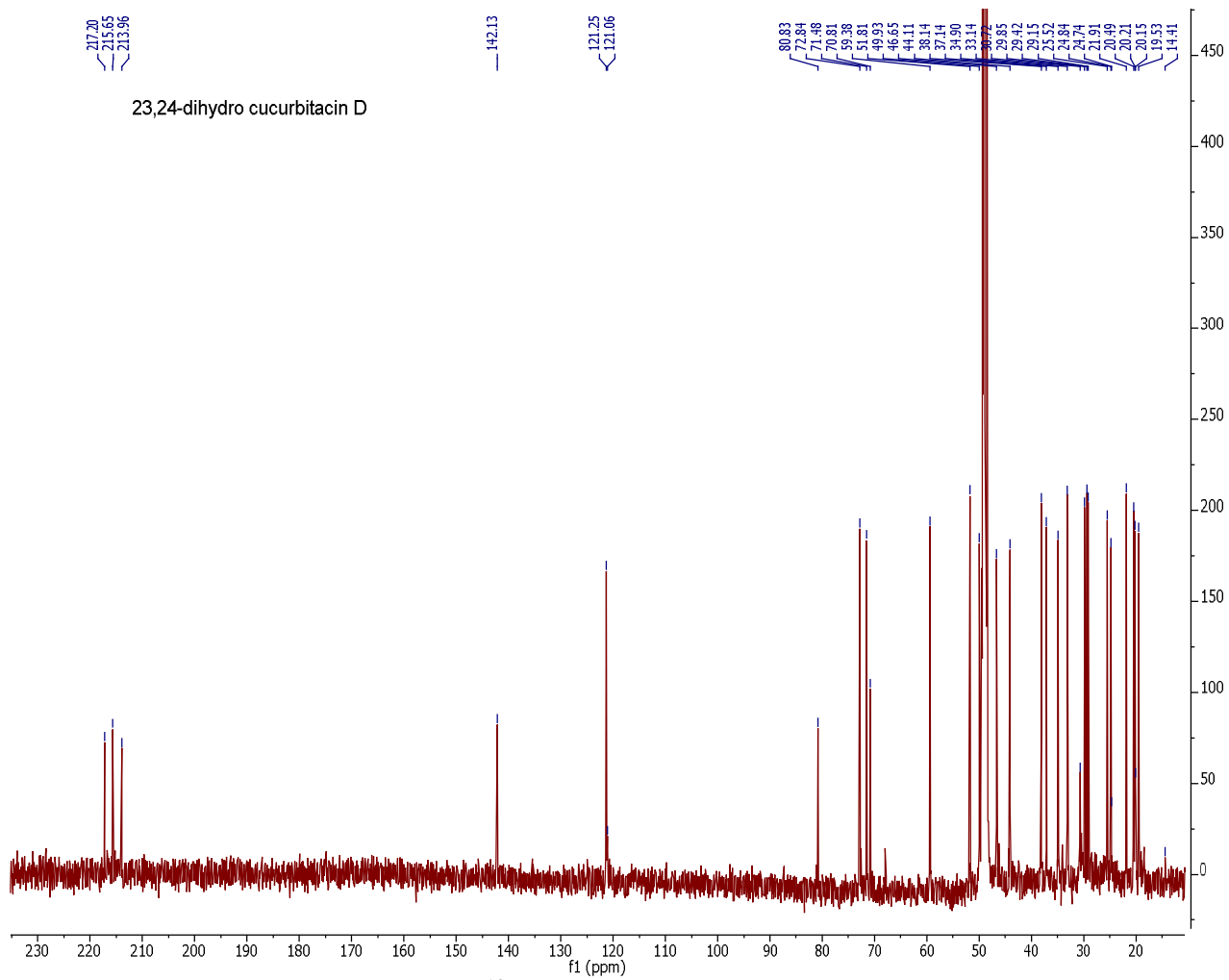
1. Andrade-Cetto A. (1996). Estudio etnobotánico y fitoquímico de plantas útiles en la región de Xochipala, Guerrero, para el tratamiento de la diabetes no insulina dependiente. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM, México
2. De la Cruz M. (1991). *Libellus de medicinabulus indorum herbis*. Manuscrito Azteca de 1552. Según traducción latina de Juan Badiano. Versión española con estudios y comentarios por diversos autores. Fondo de Cultura Económica- Instituto Mexicano del seguro Social, Eds.
3. Andrade-Cetto A. (1999). Estudio Etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal & Chalm. Y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. Soto
4. Sánchez Díaz G. (2003). Las contribuciones michoacanas a la Medicina y la Salud Pública en el siglo XIX. En: Ensayos sobre Historia de la Medicina. Encuentros 9. (Martínez Cortés F., Guzmán Ávila JN. Coordinadores). Instituto de Investigaciones Históricas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México., 138-141.
5. [WHO, 2004](#)
6. [SSA, 2004](#)
7. Pablo Kuri Morales. Salud de la población adulta mayor: perfil epidemiológico. [http://new.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5968&itemid=2391&lang=en](http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5968&itemid=2391&lang=en)
8. <http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/facts/en/index9.html>
9. [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/blood\\_glucose/en/index.html](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_glucose/en/index.html)
10. (Número de referencia OMS: WHO/NMH/CHP/CPM/11.1) [http://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis\\_diabetes2011/en/index.html](http://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2011/en/index.html)
11. WHO (1999) y la ADA (2004)
12. Robertson Paul R. (2004). Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity of pancreatic islet beta cells in diabetes. (2004). The Journal of Biological Chemistry. **The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.** **279** (41): 42351-42354.
13. WHO 1999; 2005; 2013.
14. Constantino Ana L. (2007). Efecto de dos plantas mexicanas con actividad hipoglucemiante, *Cecropia obtusifolia* Bertol y *Mossanona depressa* (Baill) Chatrou, sobre la secreción de insulina en ratas diabéticas n-STZ. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
15. World Health Organization: Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. (2006).
16. Secretaria de Salud. Diabetes Mellitus, Diario Oficial, Segunda Sección, (2010), 3, 10-11.
17. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. (2004). Diabetes Care, 27 (1), S5-S10.
18. Weckert E., Hommer K., Dominguez X.A., Horns K., and Achenbach H. (1993). The absolute configuration of kinoin C. Phytochemistry. **33**(2):447-448.
19. Achenbach H., Horn K., Dominguez J.A., Rombold C., and Gómez López E. (1993). Cucurbitanes and cucurbitane-type glycosides from *Ibervillea sonora*. Phytochemistry. **33**(2), 437-445.
20. Ríos J.L. (2010). Effects of triterpenes on the immune system. J. Ethnopharm. **128**:1-14.
21. Mukherjee P.K., Maiti B.K., Mukherjee B.K., and Houghton P.J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. J. Ethnopharmacol. **106**:1-28.

22. Jacobs H. and Singh T. (1990). Isolation and <sup>13</sup>C-NMR assignments of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa* and *Gurania subumbellata*. *J Nat Prod.* **53** (6):1600-1605.
23. Yamada Y., Hagiwara K., Iguchi K., Suzuki S., and Hsu H.Y. (1978). Isolation and structures of arvenins from *Anagallis arvensis* L. (Primulaceae). New cucurbitacin glucosides. *Chem Pharm Bull.* **26**:3107-3112.
24. Fujita S., Kasal R., Ohtani K., Yamasaki K., Chiu M.H., Nie R-L., and Tanaka, O. (1995). Dammarane glycosides from aerial parts of *Neosalsomitra integrifoliola*. *Phytochemistry.* **38**:465-472.
25. Andrade-Cetto A. and Heinrich M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J. Ethnopharmacol.* **99**:325-348.
26. Guerrero-Analco J.A., Hersch-Martinez P., Pedraza-Chaverri J., Navarrete A., and Mata, R. (2005). Antihyperglycemic effect of constituents from *Hintonia standleyana* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med.* **71**:1099-1105.
27. Guerrero-Analco J., Medina-Campos O., Brindis F., Bye R., Pedraza-Chaverri J., Navarrete A., and Mata R. (2007). Antidiabetic properties of selected Mexican copalchis of the Rubiaceae family. *Phytochemistry.* **68**: 2087–2095.
28. Alarcón-Aguilar F.J., Campos-Sepúlveda A.E., Xolalpa-Molina S., Hernández-Galicia E., and Román-Ramos R. (2002). Hypoglycaemic activity of *Ibervillea sonora* roots in healthy and diabetic mice and rat. *Pharmaceutical biology.* **40**(8):570-75.
29. Hernández-Galicia E., Calzada-Bermejo F., Román-Ramos R., and Alarcón-Aguilar F.J. (2007). Monoglycerides and fatty acids from *Ibervillea sonora* root: Isolation and hypoglycemic activity. *Planta Med.* **73**, 236-240.
30. Ruiz-Bustos E., Velázquez C., Garibay-Escobar A., García Z., Plascencia-Jatomea M., Cortéz-Rocha M.O., Hernández-Martínez J., and Robles-Zepeda R.E. (2009). Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *J Med Food.* **12**:1398-1402.
31. Rivera-Ramírez F., Escalona-Cardoso G.N., Garduño-Siciliano L., Galaviz-Hernández C., and Paniagua-Castro N. (2011). Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonora* in mice fed a high-fat diet with fructose. *J Biomed Biotechnol.* **2011**, doi:10.1155/2011/968984.
32. Alarcón-Aguilar F., Calzada-Bermejo E., Hernández-Galicia C., Ruíz-Ángeles R. and Román-Ramos R. (2005). Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonora* root extracts-II. *J Ethnopharmacol.* **97**:447-452.
33. Lira R., Villaseñor J.L., and Ortiz, E. (2002). A proposal for the conservation of the family Cucurbitaceae in México. *Biodivers Conserv.* **11**:1699-1720.
34. Salud.gob.mx. NOM-062-ZOO-1999
35. Lorke D. (1983). A new Approach to Practical Acute Toxicity Testing. *Arch. Toxicol.* **54**:275-287.
36. Liu J., Davidson R.S. and Howarth O.W. (1994). The structure of 23,24-Dihydrocucurbitacin-F- Full assignments of the H-1 and C-13 NMR-spectra. *J. Prakt. Chem.* **336**:16–18.
37. Dinan L., Whiting P., Sarker S.D., Kasai R., and Yamasaki K. (1997). Cucurbitane- type compounds from *Hemsleya carnosiflora* antagonize ecdysteroid action in *Drosophila melanogaster*  $\beta_{II}$  cell lines. *Cell Mol. Life Sci.* **53**: 271-274.
38. Frei B., Heinrich W., Herrmann D., Orjala JE., Schmitt J., and Sticher O. (1998), Phytochemical and biological investigation of *Begonia heracleifolia*. *Planta medica* **64** (4) 385-386.

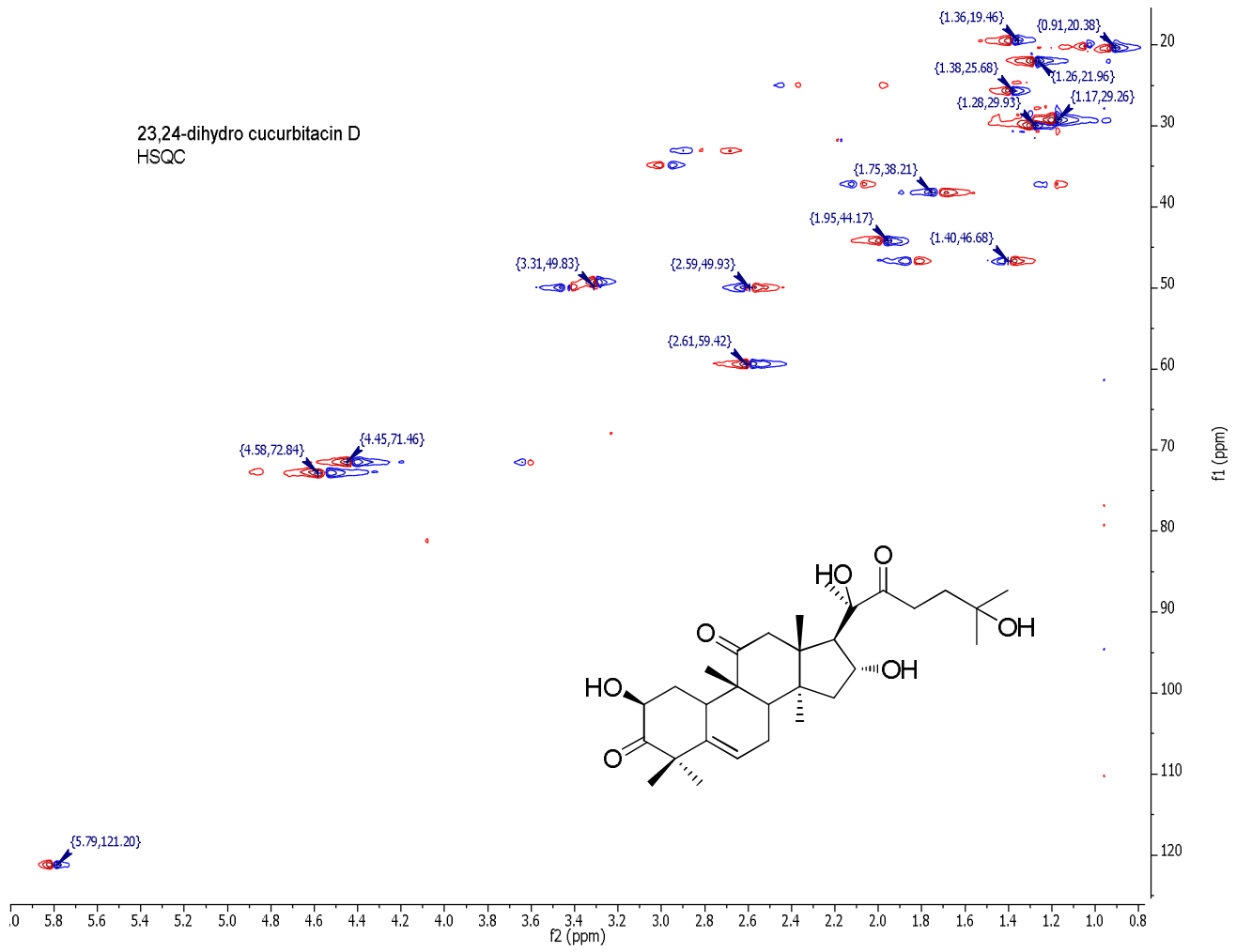
39. Chen X.B., Zhuang J.J., Liu J.H., Lei M., Ma L., Xu Shen J.C., and Hu, L.H. (2011). Potential AMPK activators of cucurbitane triterpenoids from *Siraitia grosvenorii* Swingle. *Bioorg. Med. Chem.* **19**: 5776–5781.
40. Cheng H.L., Ching Y., Liao Y.W., and Lin C.C. (2012). EMCD, a hypoglycemic triterpene isolated from *Momordica charantia* wild variant, attenuates TNF- $\alpha$ -induced inflammation in FL83B cells in an AMP-activated protein kinase-independent manner. *Eur. J. Pharmacol.* **689**: 241–248.
41. Tan M.J., Ye J.M., Turner N., Hohnen-Behrens C., Ke C.Q., Tang C.P., Chen T., Weiss H.C., Gesing E.R., Rowland A., James D.E., and Ye Y. (2008). Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway. *Chem. Biol.* **15**: 263–273.
42. Ting-ni Huang, Kan-Ni Lu, Yi-Ping Pai, Chin Hsu, and Ching-jang Huang. (2013). Role of GLP-1 in the hypoglycemic effects of wild bitter gourd. *J. Evidence-Based Complementary Altern. Med.* **2013**. ID 625892, 13 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013625892>.
43. Pranav K. Prabhakar and Mukesh Doble. (2008). A Target Based Therapeutic Approach Towards Diabetes Mellitus Using Medicinal Plants. *Current Diabetes Reviews.* **4**: 291-308.
44. Mankil Jung, Moonsoo Park, Hyun Chul Lee, Yoon-Ho Kang, Eun Seok Kang, and Sang, Ki Kim. Antidiabetic Agents from Medicinal Plants. (2006). *Current Medicinal Chemistry.* **13**: 1203-1218.

## ANEXOS

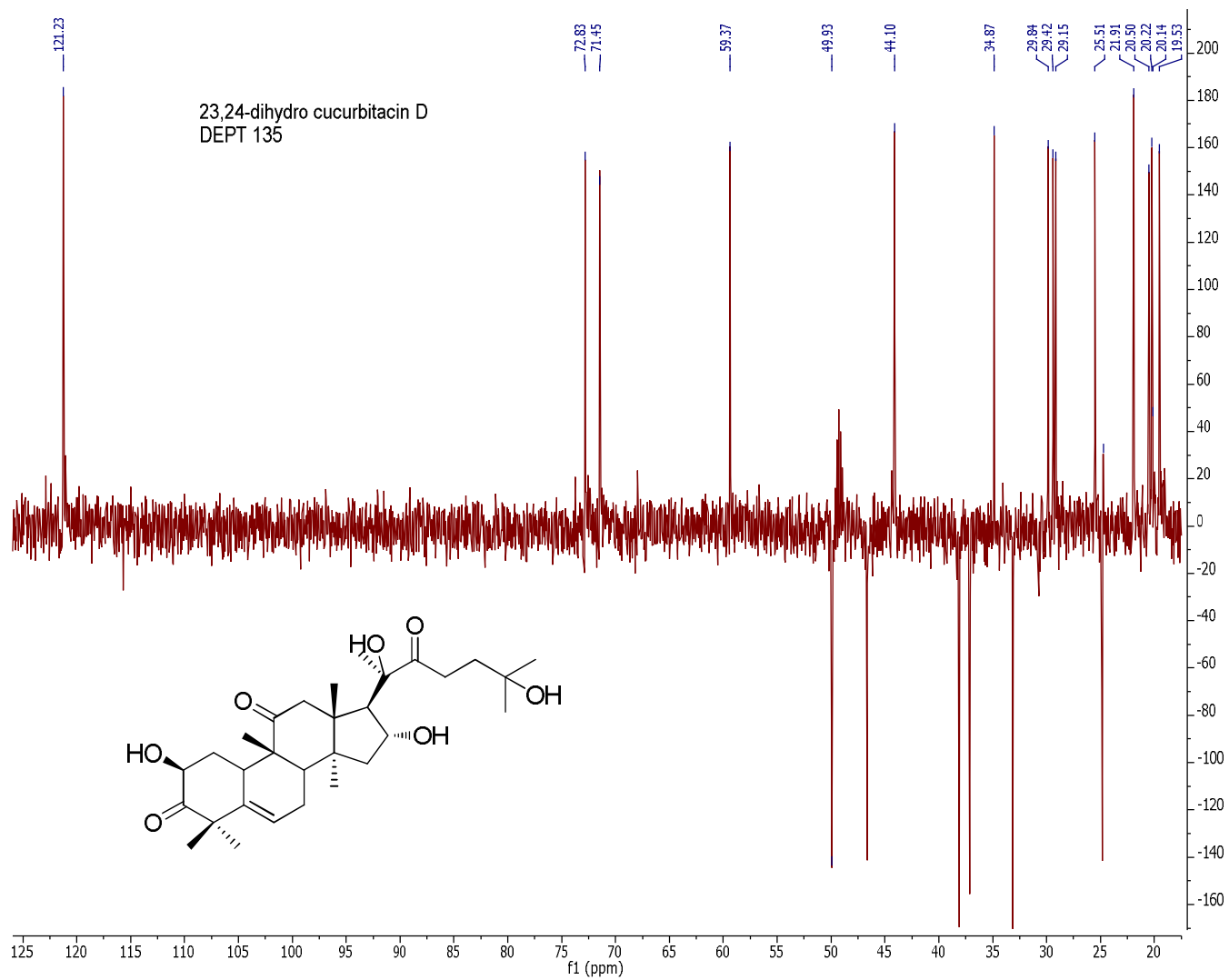
Espectros de resonancia magnética nuclear de  
los compuestos aislados



1. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de la 23,24-dihidro cucurbitacina D (2)

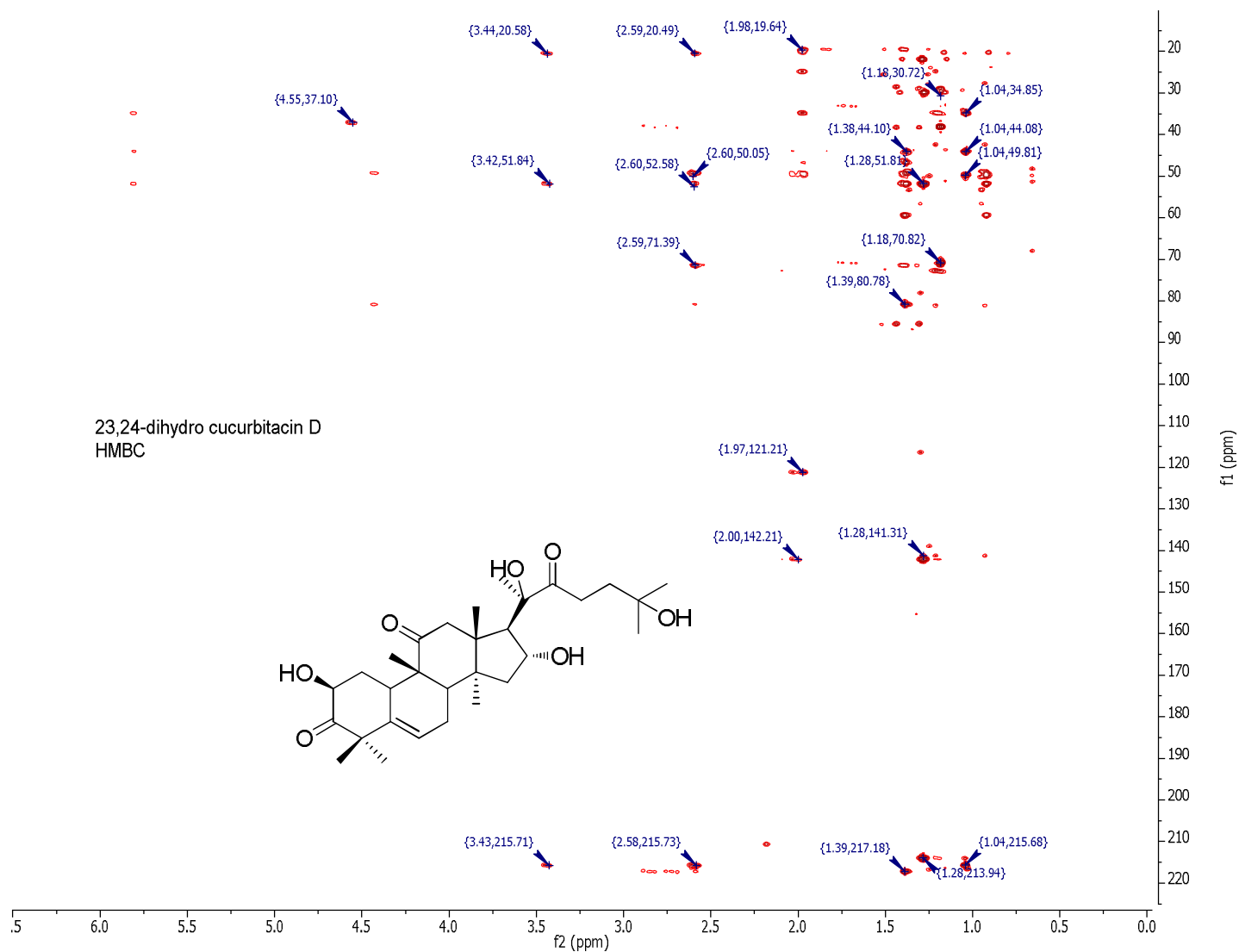


2. Espectro HSQC de la 23,24-dihidro cucurbitacina D (2)

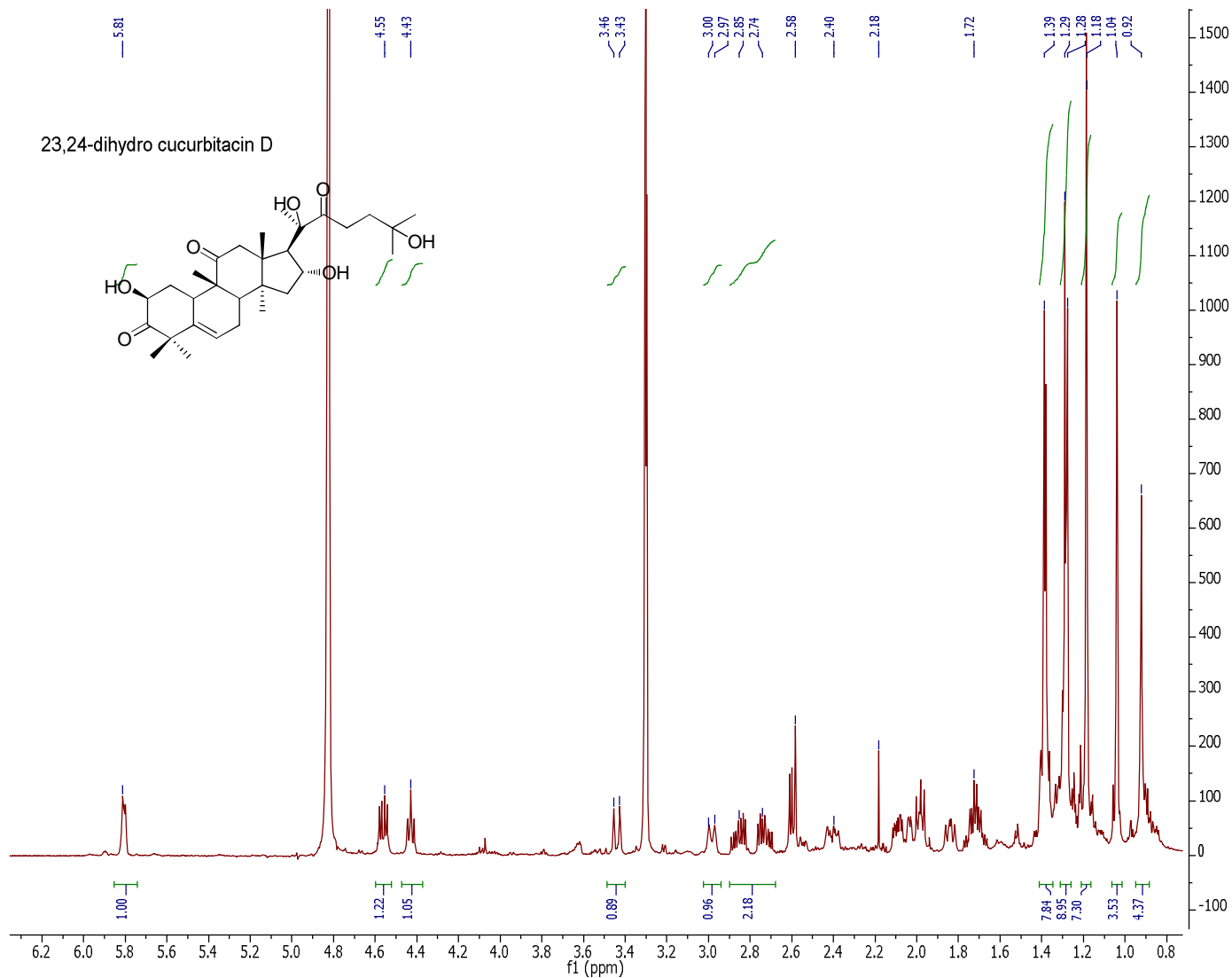


3. Espectro DEPT de la 23,24-dihidro cucurbitacina D (2)



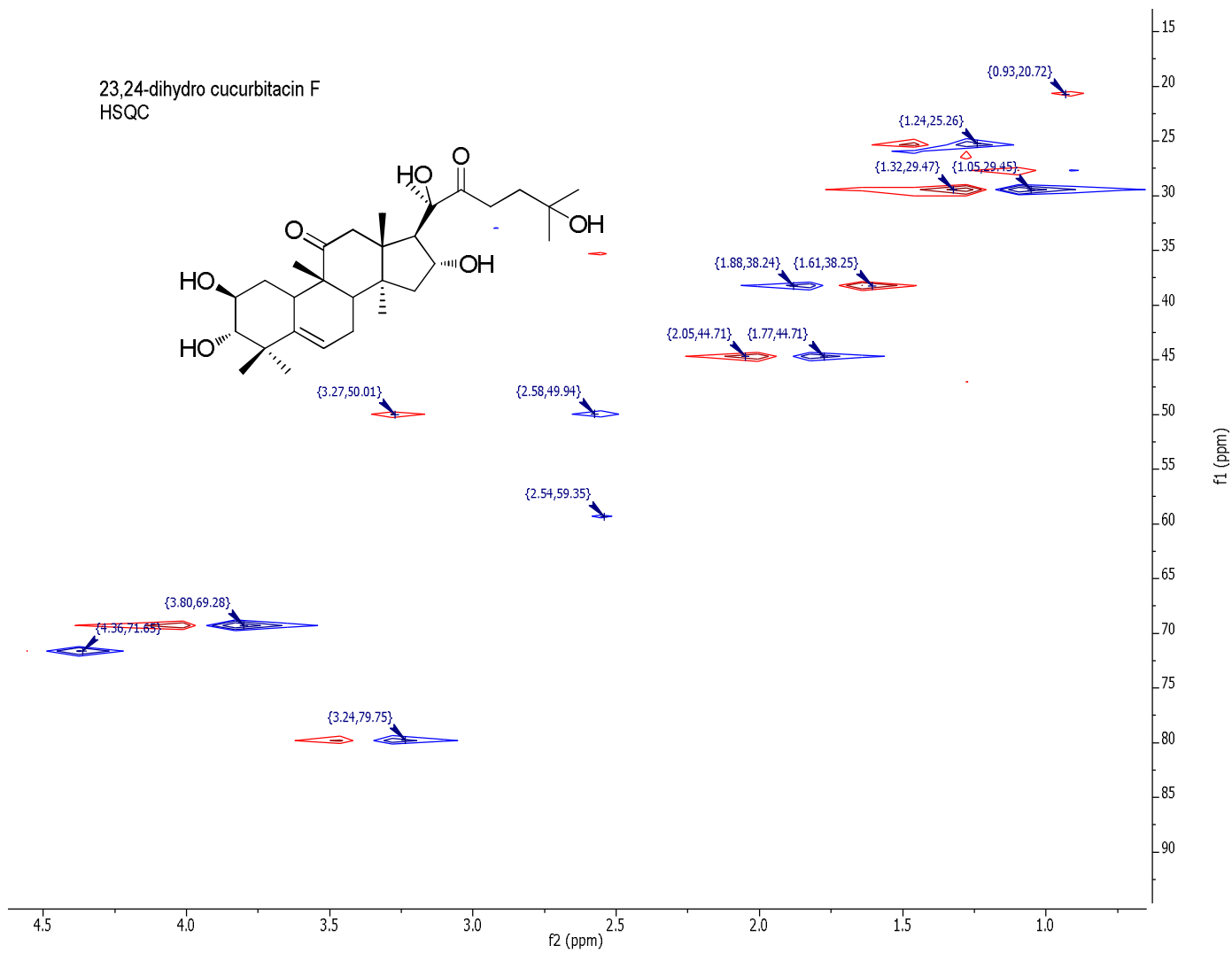


#### 4. HMBC ESPECTRO de la 23,24-dihidro cucurbitacina D (2)

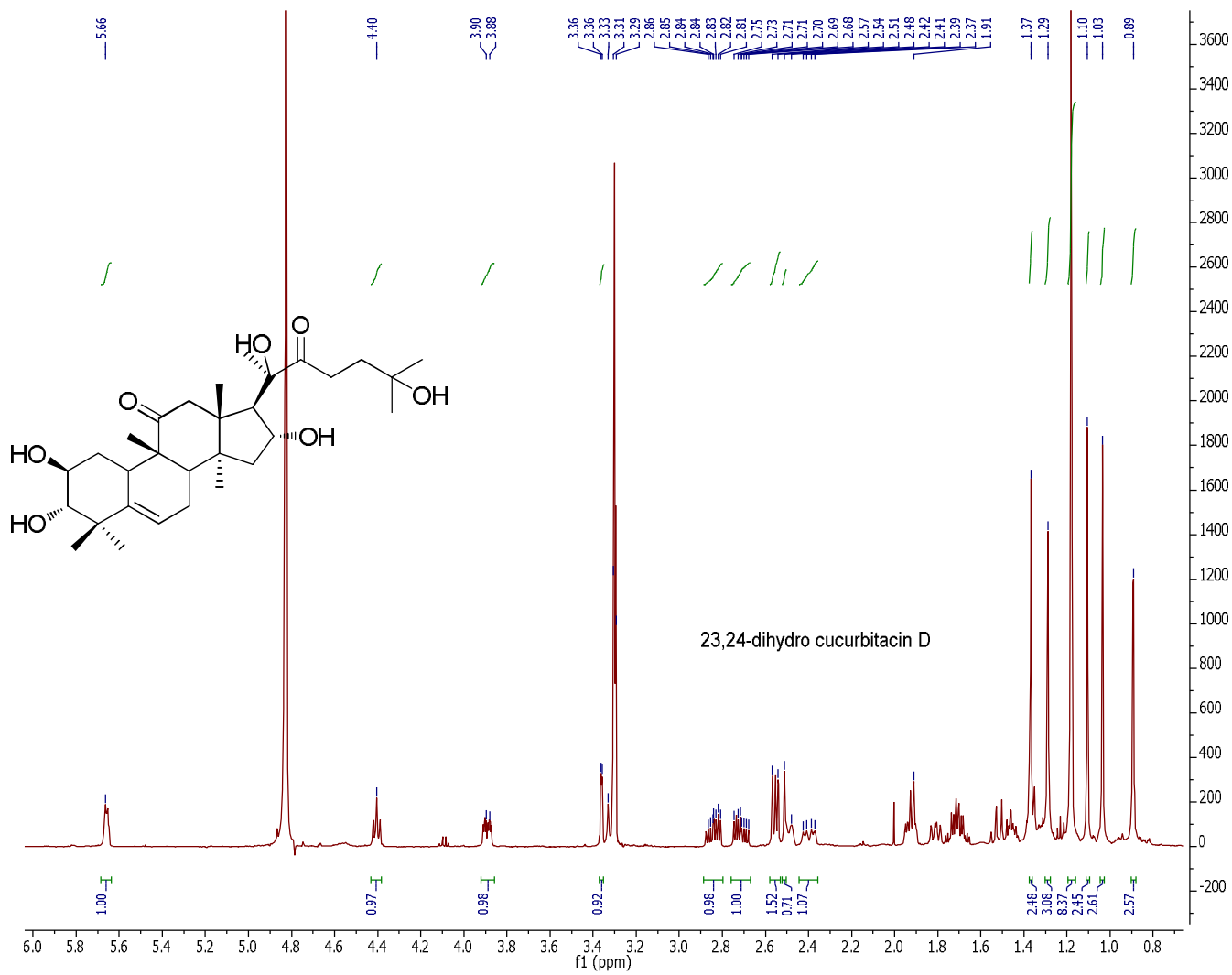


5.  $^1\text{H}$  NMR espectro de la 23,24-dihidro cucurbitacina D (2)

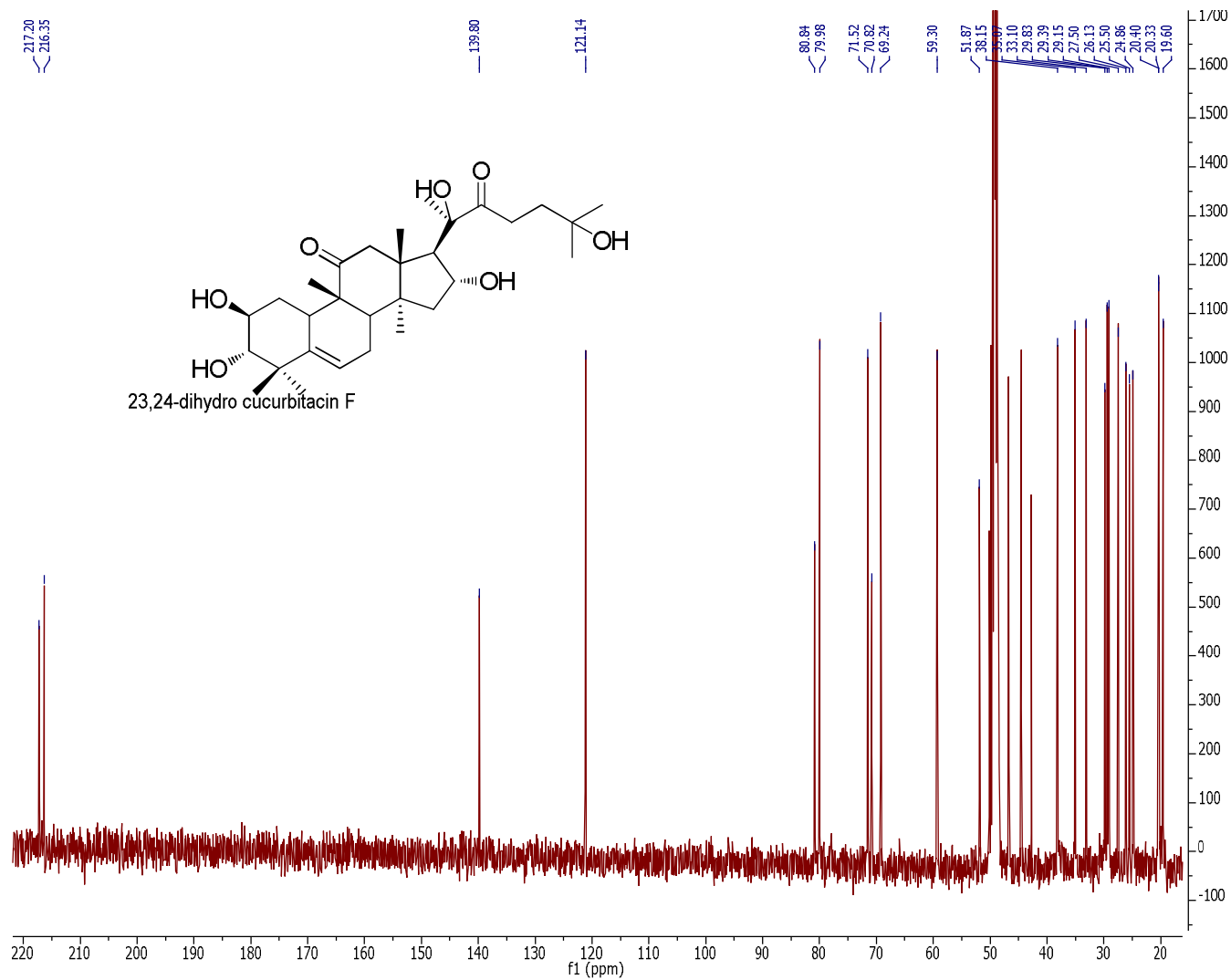
23,24-dihydro cucurbitacin F  
HSQC



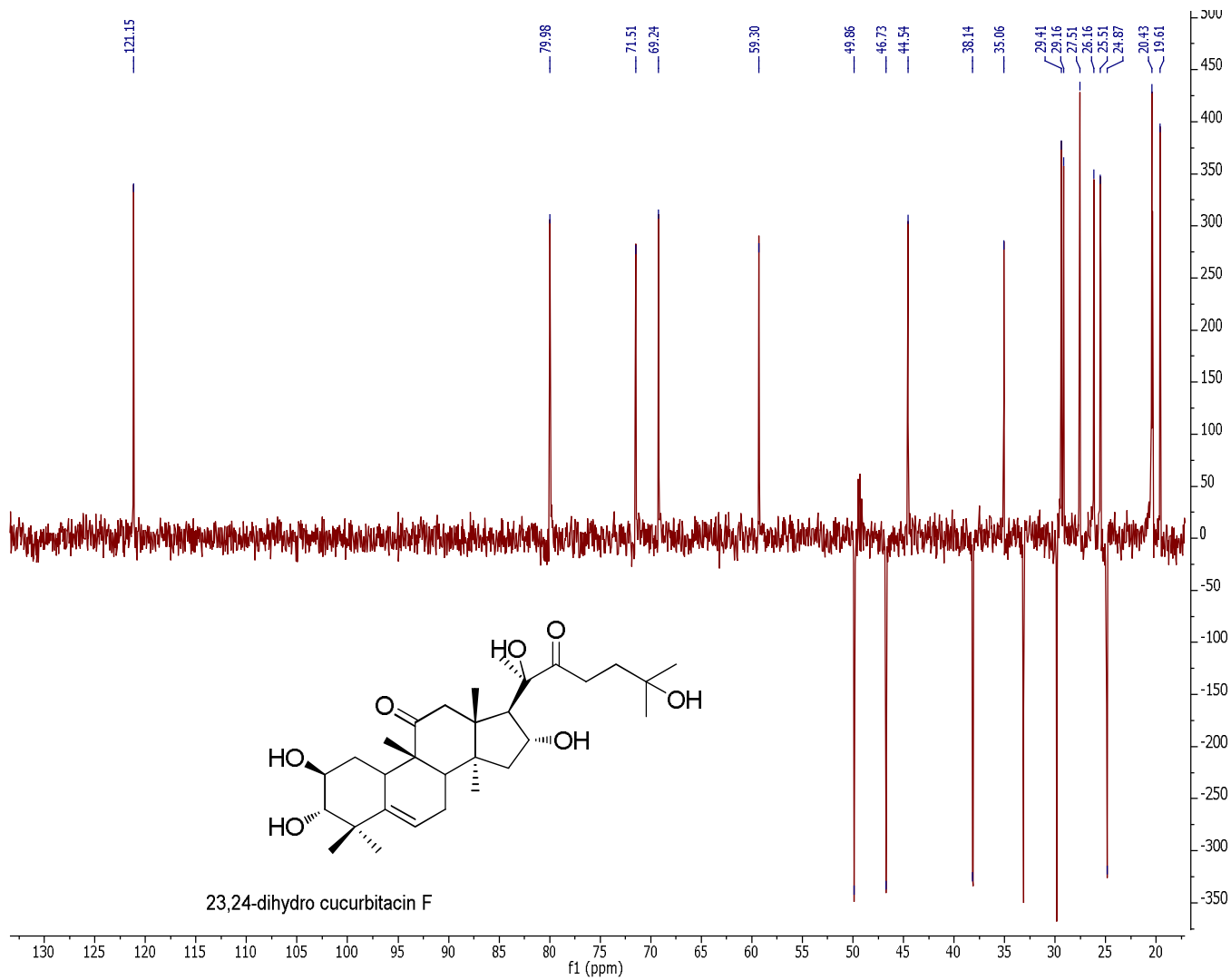
6. Espectro HSQC de la 23,24-dihidro cucurbitacina F (1)



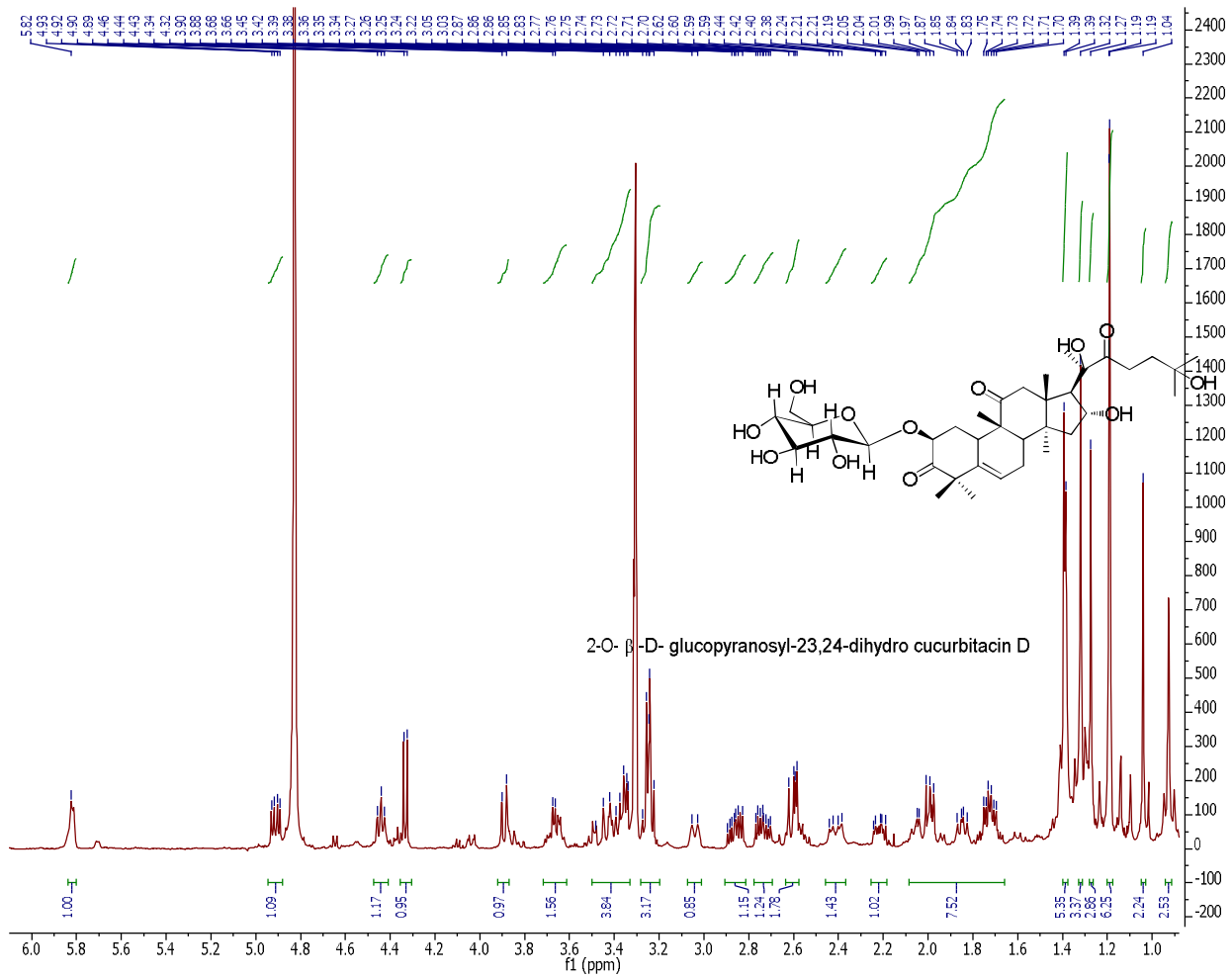
7.  $^1\text{H}$  NMR espectro de la 23,24-dihidro cucurbitacina F (**1**)



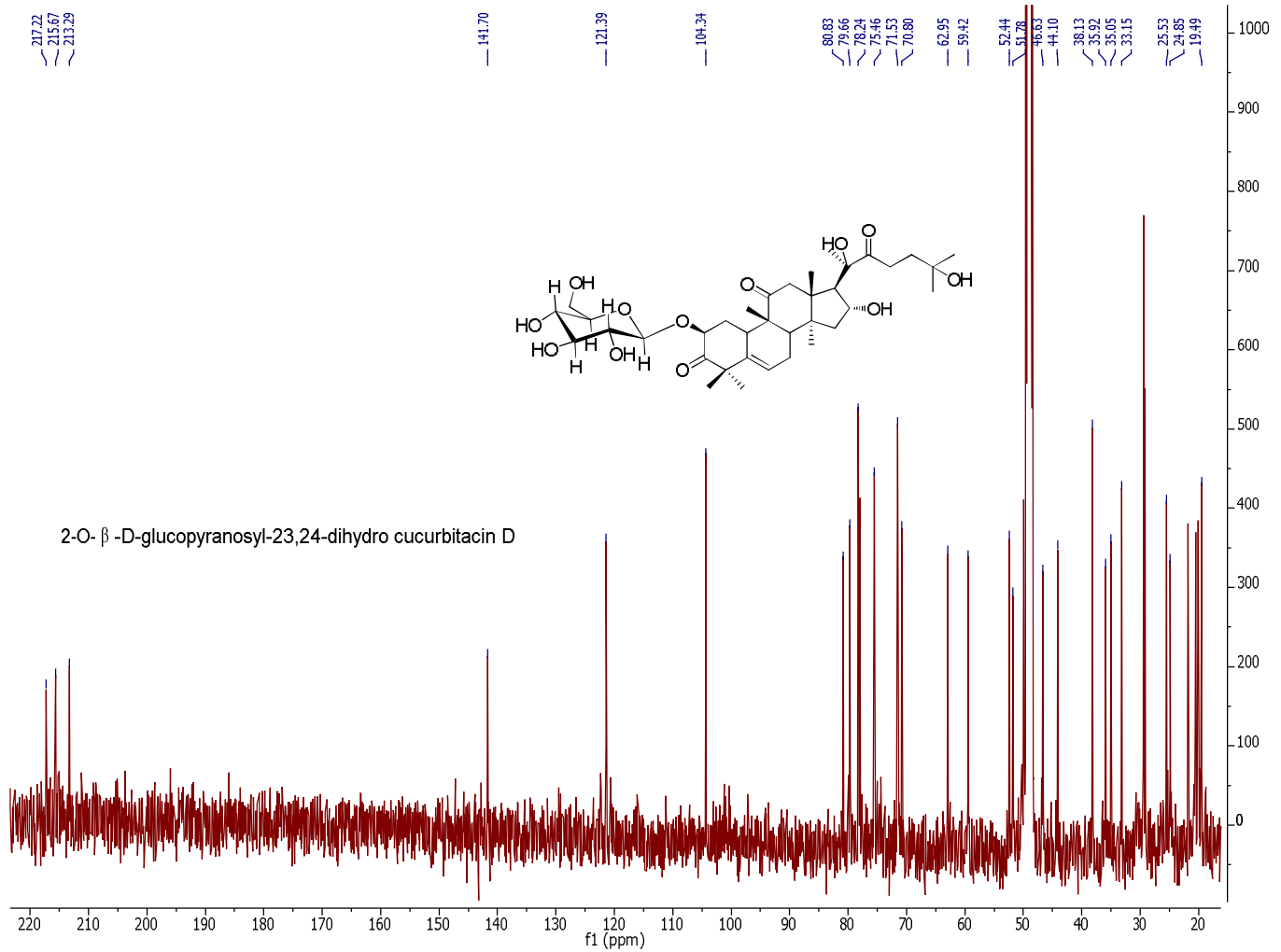
8. <sup>13</sup>C RMN espectro de la 23,24-dihidro cucurbitacina F (1)



9. Espectro DEPT de la 23,24-dihidro cucurbitacina F (1).

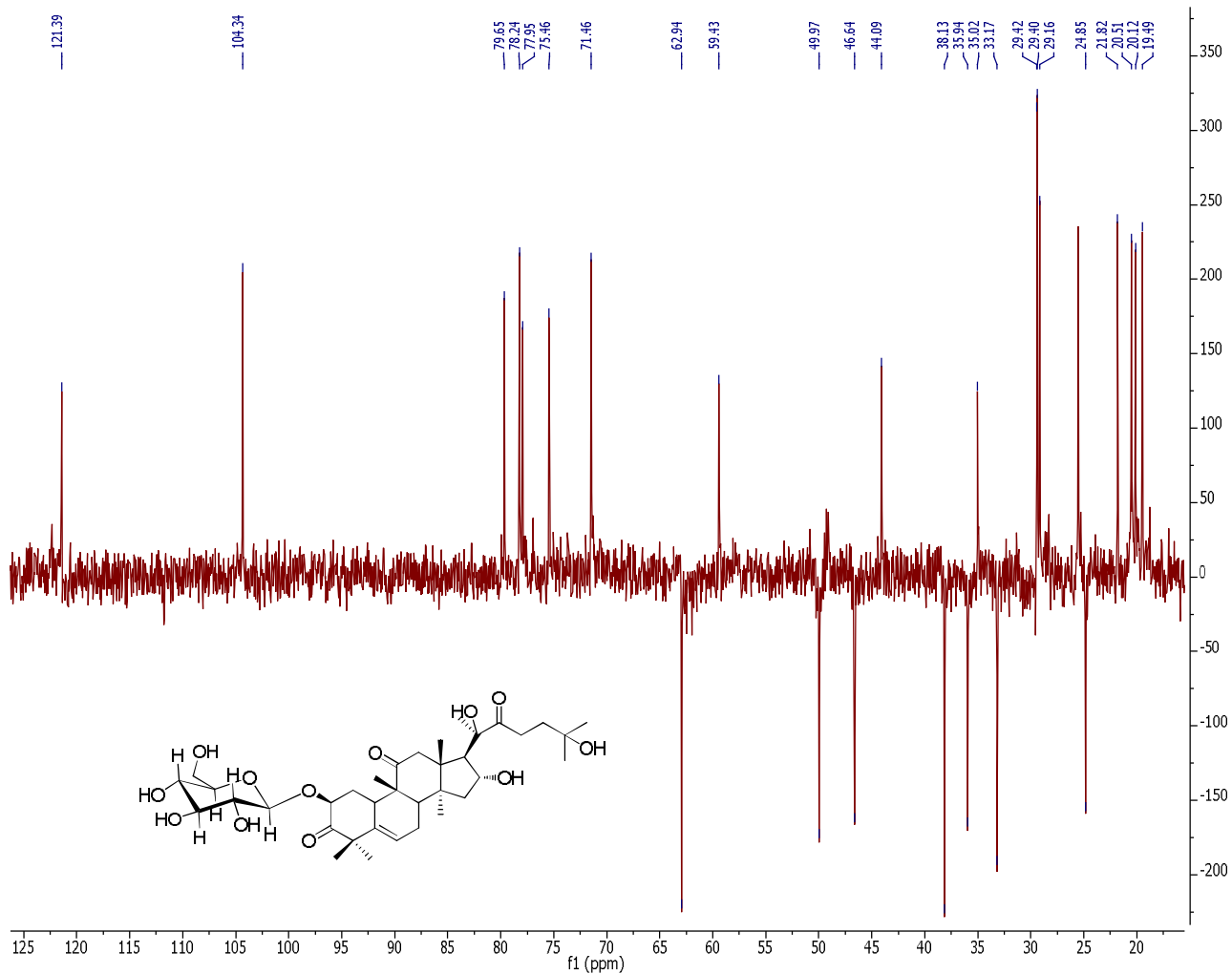


10.  $^1\text{H}$  RMN espectro de la 2-O-β-D-glucopiranosil-23,24-dihidro cucurbitacina D (3)



11.  $^{13}\text{C}$  RMN espectro de la 2-O-β-D-glucopiranosil-23,24-dihidro cucurbitacina D (3)





12. Espectro DEDPT de la 2-O-β-D-glucopiranosil-23,24-dihidro cucurbitacina D (3)