

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD  
MAESTRIA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

**ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE**  
*Lepechinia caulescens*

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL



COORDINACION DE SERVICIOS  
DOCUMENTALES - BIBLIOTECA

PRESENTA

QFB. CLAUDIA CRISTINA CONTRERAS WEBER

TUTORES

DR. RUBEN ROMAN RAMOS

DR. RAUL G. ENRIQUEZ HABIB

ASESORES

DR. HECTOR PONCE MONTER

DR. FRANCISCO J. ALARCON AGUILAR

Junio de 1998

10-01-00 1000

La Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana cuenta con el apoyo del CONACYT, según No. de registro 309-0, por considerársele un posgrado con nivel de excelencia.

Mi total reconocimiento al CONACYT por el apoyo económico brindado durante la realización de la maestría, a través de la beca con número 95351.

---

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a :

- A **DIOS**, por permitirme lograr un propósito mas,
  - A mi **Madre y Hermanos**, por su apoyo constante, con todo mi cariño les dedico esta meta lograda,
  - A **Susy y Emilio**, por su apoyo incondicional en todo momento,
  - A **Claudia**, mi mejor amiga, por enseñarme a ver las cosas desde otra perspectiva y por demostrarme que no es necesario estar juntas para saber que cuento contigo,
  - A **Mónica, Araceli y Carmen**, por la amistad que hemos sabido mantener pese a la distancia,
  - A todos mis compañeros y amigos de maestría (Gen-96), por los buenos y malos momentos que pasamos juntos,
  - A mis nuevos amigos del Instituto de Química, gracias por su cooperación y apoyo, pero sobre todo por la amistad que me han brindado,
  - A mi ahijada, **Sandra**, por todo lo que representa para mi.
-

Agradezco al Dr. Rubén Román Ramos, por la dirección de este trabajo, por su constante apoyo y por su continuo interés en mi superación profesional, pero sobre todo por su confianza en mí.

A todo el Comité Tutorial por el tiempo dedicado a este proyecto, por todas sus sugerencias y acertados comentarios.

---

EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACION FUE REALIZADO EN :

EL LABORATORIO DE FARMACOLOGIA, DEL DEPARTAMENTO  
DE CIENCIAS DE LA SALUD, DIVISION DE CIENCIAS  
BIOLOGICAS Y DE LA SALUD UAM - IZTAPALAPA, Y

EL LABORATORIO 1 - 5 DEL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA  
UNAM.

---

# INDICE

	Pág.
RESUMEN	1
1. INTRODUCCION	4
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
2.1. HIPOTESIS	21
2.2. OBJETIVOS	22
2.2.1. OBJETIVO GENERAL	22
2.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES	22
3. MATERIAL Y METODOS	23
3.1. MATERIAL	23
3.1.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACION	23
3.1.2. MATERIAL VEGETAL	23
3.2. METODOLOGIA	23
3.2.1. COLECTA DE LA PLANTA Y PREPARACION DE LA DECOCCION ACUOSA DE <i>Lepechinia caulescens</i>	23
3.2.2. ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LA DECOCCION ACUOSA DE LAS INFLORESCENCIAS DE <i>L. caulescens</i>	24
3.2.2.1. ENSAYOS BIOLOGICOS EN CONEJOS	24
3.2.2.1.1. CONEJOS SANOS CON HIPERGLUCEMIA TEMPORAL	24
3.2.2.1.2. CONEJOS CON DIABETES MODERADA	25
3.2.2.1.3. CONEJOS CON DIABETES SEVERA	25

---

3.2.2.2.. ENSAYOS BIOLÓGICOS EN RATONES	26
3.2.2.2.1. RATONES SANOS	26
3.2.2.2.2. RATONES DIABÉTICOS	26
3.3. OBTENCIÓN Y ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS	27
3.4. OBTENCIÓN Y ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LAS FRACCIONES	28
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
3.5.1. DECOCCIÓN ACUOSA EN CONEJOS	29
3.5.2. EXTRACTOS Y FRACCIONES POSEEDORES DE LA MAYOR ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE	30
3.6. ESPECTRO INFRARROJO DE LA FRACCIÓN CON MAYOR ACTIVIDAD	30
3.6. DIAGRAMA DE TRABAJO	31
4. RESULTADOS	33
4.1. CONEJOS SANOS CON HIPERGLUCEMIA TEMPORAL	33
4.2. CONEJOS CON DIABETES MODERADA	36
4.3. CONEJOS CON DIABETES SEVERA	39
4.4. RATONES SANOS CON GLUCEMIA NORMAL	42
4.5. RATONES DIABÉTICOS	44
4.6. VALORACIÓN FARMACOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS	46
4.7. VALORACIÓN FARMACOLÓGICA DE LAS FRACCIONES	47
4.8. ESPECTRO DE INFRARROJO DE LA FRACCIÓN HIPOGLUCEMIANTE	50
5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	52
5.1. DISCUSIÓN	52
5.2. CONCLUSIONES	58
6. BIBLIOGRAFÍA	59

---

## RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de síndromes debidos a la falta relativa o absoluta de secreción y/o acción de la insulina, caracterizados por un metabolismo alterado de los carbohidratos, lípidos y proteínas y un mayor riesgo de complicaciones por enfermedades cardiovasculares. La mayoría de los pacientes pueden clasificarse clínicamente en los que presentan DM tipo 1 y los que tienen DM tipo 2; los primeros carecen totalmente de insulina endógena mientras que los segundos, aunque producen insulina endógena esta resulta insuficiente. La DM también puede estar asociada con ciertos síndromes genéticos o puede ser secundaria a la administración de fármacos o a otras enfermedades (enfermedad del páncreas, endocrinopatías, anomalías del receptor de insulina), o puede presentarse durante la gestación .

En personas normales la glucemia en ayunas oscila entre 60 y 115 mg/dL. Esta concentración se eleva sin rebasar los 200 mg/dL durante la primera hora después de una comida. Posteriormente, los sistemas de retroalimentación regresan rápidamente este valor a cifras basales, en un plazo de dos a tres horas. En la inanición, la gluconeogénesis hepática proporciona la glucosa necesaria para conservar los niveles de glucemia dentro de los rangos normales.

Al elevarse la concentración sanguínea de glucosa por arriba de los valores normales (60-115 mg/dL) en ayunas, la secreción de insulina se incrementa con rapidez, llegando a un nivel máximo de 10 a 30 veces el nivel basal (10-20  $\mu$ U/mL). Por lo tanto, el aumento de la secreción de insulina por estímulo de la glucosa es espectacular tanto por su rapidez como por su magnitud. También la interrupción de la secreción de insulina es muy rápida, produciéndose unos minutos después de que la glucemia recupera el valor basal.

El control de la DM debe estar enfocado hacia la desaparición de los síntomas y a la prevención de las complicaciones agudas y crónicas características de la enfermedad.

Son cuatro los factores más importantes para el control de la DM: la educación del paciente en cuanto a su padecimiento; la dieta idónea con carbohidratos, lípidos y proteínas; el ejercicio físico adecuado y la terapia medicamentosa.

Dentro de los medicamentos encontramos a las insulinas de origen animal y biosintético, de administración parenteral, y a los hipoglucemiantes orales como las sulfonilureas y las biguanidas. Estos últimos sólo pueden ser utilizados en los pacientes diabéticos tipo 2.

A pesar del uso amplio de los medicamentos mencionados, aún no se logra tener un control idóneo de la DM. Por lo que se continúa la búsqueda de nuevas terapias como el trasplante de páncreas y de islotes pancreáticos, así como el uso de bombas automáticas de infusión de insulina, conocidas con el nombre de páncreas artificial. Sin embargo, estas alternativas aún se encuentra en fase de desarrollo y además pertenecen a una medicina que pone como requisito un nivel económico alto de los pacientes, no quedando al alcance de la población masiva de los países en vías de desarrollo.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud, más del 70% de la población acude a la medicina tradicional para resolver sus problemas de salud. Dentro de esta medicina se recurre al uso de plantas con propiedades antidiuréticas, antitusígenas, antiparasitarias, antimicrobianas, abortifacientes, analgésicas, hipotensoras y antidiabéticas, entre otras. De hecho, es interesante recordar que la medicina tradicional ha dado a la medicina moderna muchos medicamentos, entre los cuales podemos citar a la atropina, codeína, digitoxina, efedrina, escopolamina, papaína, reserpina, vincristina y muchos otros.

A partir de los años setentas la medicina experimental reinició la valoración de los conocimientos empíricos sobre la acción de muchas plantas. Estos estudios han sido encaminados al descubrimiento de nuevos medicamentos a partir de productos naturales y a verificar la función que tiene la medicina tradicional y en particular las plantas medicinales, en el tratamiento de diferentes enfermedades de la población de los países en vías de desarrollo.

Las investigaciones etnobotánicas reportan que a nivel mundial se utilizan alrededor de 800 plantas en el control empírico de la DM. De estas plantas sólo 300 han sido estudiadas experimentalmente. Las investigaciones etnobotánicas realizadas en México reportan que la población utiliza más de 150 plantas como antidiabéticas. De ellas, 63 han sido investigadas experimentalmente convalidándose la actividad hipoglucemiante de 37.

Estudios etnobotánicos realizados recientemente indican que *Lepechinia caulescens* es una de las plantas más ampliamente utilizadas en la República Mexicana para el control de la DM y se encuentra distribuida en el valle de México y en varios estados. La decocción acuosa de dicha planta mostró disminución de la glucemia de alrededor del 20% en conejos con hiperglucemia temporal y de aproximadamente del 15% en conejos con diabetes moderada. Tomando en cuenta estos resultados, se procedió a obtener extractos de la planta mencionada utilizando disolventes de diferente polaridad y realizar pruebas farmacológicas para detectar al extracto poseedor de la actividad hipoglucemiante mayor. De éste, se realizaron estudios farmacológicos (cromatografía en columna y HPLC y ensayos farmacológicos en ratones), dirigidos al aislamiento de la sustancia responsable de la actividad hipoglucemiante presente en la planta.

El análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando la prueba t de Student para muestras independientes de una sola cola, usando un nivel mínimo de significancia del 95% .

Los resultados de la investigación mostraron que la actividad hipoglucemiante de la decocción acuosa de *L. caulescens*, reportada empíricamente por la población mexicana y corroborada en los animales de experimentación, se conserva en el extracto acuoso y en la primera fracción de éste, de las tres obtenidas por HPLC.

Los estudios farmacológicos para el aislamiento e identificación de la sustancia pura responsable de la actividad hipoglucemiante de *Lepechinia caulescens* deben continuarse a partir de la fracción poseedora del efecto farmacológico.

## 1. INTRODUCCION

La diabetes mellitus se puede definir como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por un estado de hiperglucemia crónica que obedece a defectos en la secreción de insulina, resistencia a esta hormona o ambos. Además de producir trastornos en el metabolismo de carbohidratos, la enfermedad afecta el metabolismo lipídico y proteínico, causando también desequilibrio hidroelectrolítico (Taylor y Agius, 1988; Iwasaki y col., 1996). La hiperglucemia ocupa un lugar primordial entre estos trastornos. La glucemia en ayunas es igual o superior a 126 mg/dL y con frecuencia se puede detectar glucosa en la orina (glucosuria) (Comitee Report, 1997; Rull-Rodrigo, 1997).

La diabetes mellitus (DM) es uno de los problemas más importantes de la medicina y afecta a un alto porcentaje de la población mundial (2-10 %). En la mayoría de los países en vías de desarrollo la DM ocupa el tercer lugar como causa de deceso, únicamente después de las enfermedades cardiovasculares y oncológicas. La prevalencia de DM en México oscila del 2 al 5 % de la población y su mortalidad reportada en 1994 fue de 15.8 por cada 100,000 habitantes. Esta enfermedad y sus complicaciones incapacitantes causan un gran daño económico y social (Head y Fuller, 1990; Rodríguez-Saldaña y col., 1994; ADA, 1997; Alberti, 1997).

Los egipcios en el siglo XV a. de C. describieron por primera vez en la historia de la humanidad los síntomas de la diabetes en los papiros de Ebers. Un vocablo correspondiente del actual nombre de diabetes le fue dado por los griegos a la enfermedad, y significaba entonces “Sifón”, por haber observado en los pacientes del mal la característica de orinar en exceso (Levin y Munksgaard, 1937).

La palabra diabetes, que en griego (dia-baino) significa “correr a través de un sifón”, se afirma fue introducida por Aretaios de Cappadocia en el año 70 a. de C., desde entonces hizo la primera explicación clínica de la enfermedad, a la que describió : “...una enfermedad misteriosa y rara es la diabetes...los enfermos tienen una sed insaciable, pero emiten más orina

que líquido toman. La extenuación muy pronto los domina, y después de una vida miserable y dolorosa, llega rápidamente la muerte...”.

La primera demostración de la naturaleza química del proceso se atribuye a Susruta, médico hindú, quien en el siglo V de nuestra era mencionó la orina meliflua, refiriéndose al carácter dulce de la orina de los diabéticos.

En el siglo XIV, Paracelso escribió que cuando una medida de orina de un enfermo diabético se evaporaba, quedaba un resto con consistencia de jarabe, algo así como “cien gramos de sal”; el residuo parecía sal, pero era dulce, en esa época el azúcar blanco era desconocido (Stocker, 1966) .

Willis afirmó en 1675, que la orina de los enfermos de diabetes tiene un sabor “como si estuviera llena de azúcar y miel”. La existencia de azúcar en la orina del paciente diabético fue plenamente demostrada por Dobson en 1776.

Durante el siglo XIX, se inicia la época de la medicina experimental, Claude Bernard descubre que las féculas y azúcares tomadas en los alimentos se transforman en glucosa y ésta en el hígado se convierte en glucógeno, el cual a su vez pasa nuevamente a glucosa manteniendo de una manera constante la concentración de azúcar en la sangre, Brockman, en un estudio en peces y más adelante Langerhans en 1867 en su estudio en humanos, descubre que dispersos en la masa pancreática, de aspecto muy similar a las glándulas salivales, se encuentran racimos de células como pequeños islotes cuya estructura es diferente a las que producen enzimas digestivas y cuya función en ese momento no pudo ser determinada.

Las descripciones históricas de la enfermedad por Thomas Willis, Dobson y Claude Bernard dieron importancia al padecimiento y al reconocimiento de las complicaciones.

Luego, progresivamente fueron identificándose otras alteraciones químicas en el cuerpo de los enfermos diabéticos, y en 1815 Chevreul demostró que el azúcar de la sangre de los diabéticos es idéntico al que se encuentra en las uvas, llamado químicamente glucosa. En 1845, Buchardet fue el primer investigador que relacionó la diabetes con el páncreas; Petters, en 1857, descubrió que la orina de diabéticos graves contiene acetona; Gerhard, en 1874, identificó el ácido aceto-acético en la orina de estos enfermos y Kutz en 1885, identificó a su vez el ácido betahidroxibutírico; en 1886, Johann Conrad Brunner pensó que el páncreas estaba implicado en la utilización de grasas y azúcares por el organismo humano.

En 1889, los fisiólogos Von Mering y Minkowski de la Universidad de Estrasburgo, notaron que si el páncreas era eliminado en perros, el animal desarrollaba diabetes con un comienzo agudo, de curso grave y que termina con la muerte del animal en pocas semanas.

Más adelante, los científicos descubrieron que aún destruyendo al páncreas, los animales no se volvían diabéticos si los islotes se preservaban (Mehring y Minkowski, 1890).

Con base en estos estudios, se llegó a la conclusión de que el páncreas produce una sustancia indispensable para el aprovechamiento de las féculas y los azúcares. Dicha sustancia fue llamada insulina mucho antes de ser descubierta (Caádel, 1973).

Utilizando la información disponible hasta el año de 1921, Banting y Best en Ontario, desarrollaron un proyecto de investigación sobre la diabetes. El proyecto consistió en la extracción y purificación del contenido de los islotes pancreáticos, así como en la valoración biológica de los mismos en animales diabéticos. Finalmente inyectaron este material a un niño en estado de coma cetoacidótico por la diabetes y encontraron que los niveles de azúcar sanguíneo descendían, y lograron salvarle la vida. Esto fue un importante evento para los miles de diabéticos en todo el mundo y señaló el principio de una nueva era en el tratamiento de la diabetes ya que de un golpe la vida sustituyó a la muerte para los miles de pacientes con diabetes (Banting y col., 1922).

Después de aislar a la insulina, pocos descubrimientos en la historia de la medicina han tenido tan grandes repercusiones como los trabajos experimentales realizados por estos investigadores canadienses. En 1955, Sanger dilucidó la estructura química de la insulina bovina y fue hasta 1960 que Nicol y Smith describieron la estructura química de la insulina humana. En 1963, un grupo de investigadores norteamericanos y alemanes pudieron lograr la síntesis química de la insulina (Lozoya, 1989).

Si bien estos descubrimientos fueron considerados como la solución de problemas de la diabetes, eventualmente se vio que la administración intermitente de insulina no era suficiente para normalizar el metabolismo de los pacientes diabéticos.

En la actualidad, los síntomas y signos de la DM se suelen referir como polidipsia, polifagia, poliuria, cansancio y debilidad física, pérdida de peso corporal sin causa aparente, glucosuria y aumento de algunos productos intermediarios del metabolismo de las grasas

(cuerpos cetónicos), tanto en sangre como en orina (cetonemia y cetonuria). Además la DM está asociada con la aparición de complicaciones agudas y crónicas, tales como:

- 1) Cetoacidosis, ante la incapacidad de utilizar glucosa, se metabolizan los lípidos y productos de su degradación (acetona, ácidos beta hidroxibutírico y acetoacético).
- 2) Coma hiperosmolar, debido al aumento en la osmolaridad del filtrado glomerular causado por la hiperglucemia, se produce la deshidratación por diuresis osmótica.
- 3) Macroangiopatía, la hiperglucemia y la hiperinsulinemia aceleran el desarrollo de la arterioesclerosis que en las arterias coronarias es causa de infarto del miocardio y en otros vasos de trombosis y embolias, también es causa de gangrena en los miembros inferiores.
- 4) Nefropatía, es debida al engrosamiento de la membrana basal celular causando albuminuria y posteriormente insuficiencia renal, puede causar la muerte.
- 5) Complicaciones oculares, entre el 80 y 100 % de los diabéticos presentan retinopatía causada por lesiones fundamentales (aumento en la permeabilidad capilar, microaneurismas, hemorragias) y proliferativas (neovascularización, cicatrización o desprendimiento de retina).
- 6) Neuropatía, frecuente en el enfermo diabético, afecta prácticamente cualquier parte del sistema nervioso excepto el cerebro.

Dichas complicaciones son las principales causas de invalidez y mortalidad de los pacientes con DM (Crabbe, 1987; Molitch, 1989; Ayala, 1990; Blanco de la Mora, 1995).

La DM se clasifica como a continuación se describe:

#### Clasificación etiológica de la diabetes mellitus (Committee Report, 1997)

1. Diabetes tipo 1
  - a) Asociada al sistema inmune
  - b) Idiopática
2. Diabetes tipo 2
3. Otros tipos específicos de diabetes
  - a) Defectos genéticos relacionados con la función de las células  $\beta$
  - b) Defectos genéticos en la acción de la insulina
  - c) Enfermedades del páncreas exocrino
  - d) Endocrinopatías
  - e) Química o farmacológicamente inducida
  - f) Infecciones
  - g) Formas poco comunes de diabetes asociada al sistema inmune
  - h) Otros síndromes genéticos algunas veces asociados con diabetes
4. Diabetes mellitus gestacional (DMG)

De todos los casos de DM reportados, del 5 al 10% corresponden a la DM tipo 1, del 80 al 90% a la DM tipo 2, y sólo el 2% corresponde a la diabetes secundaria (Gómez-Vargas, 1997), siendo la DM tipo 1 y la DM tipo 2 los dos tipos de DM más importantes desde el punto de vista clínico (Abourizk and Dunn, 1990; Rull-Rodrigo, 1997).

La DM tipo 1, antes conocida como diabetes mellitus insulino dependiente o diabetes mellitus juvenil, inicia de manera inesperada principalmente en la niñez o juventud. Los pacientes carecen de insulina endógena y presentan tendencia a la cetoacidosis y a otras de las complicaciones agudas y crónicas de la DM (Clarke y col., 1996; Gómez-Díaz y col., 1997).

La DM tipo 2, conocida anteriormente como diabetes no insulino dependiente o diabetes mellitus del adulto, es de inicio lento y se manifiesta principalmente después de los 40 años. El páncreas de estos pacientes genera y libera insulina pero ésta resulta insuficiente (Gerich, 1996). Este tipo de DM es una de las enfermedades más comunes en las personas adultas. En nuestro país su frecuencia varía entre el 6.7 y 8.7 y en las poblaciones urbanas del norte del país incluso se han llegado a reportar frecuencias del 12%. En los pacientes con DM tipo 2 es donde se encuentra la mayoría de los casos de ceguera, enfermedad renal, nerviosa y demás complicaciones. Además, cabe señalar que cerca del 30-40% de la gente con DM tipo 2 necesita insulina (Guerrero-Romero y col., 1997; Quibrera-Infante, 1997b).

Los criterios para el diagnóstico de la DM están relacionados con diversas técnicas de laboratorio para determinar:

1. La concentración de glucosa en sangre
2. La concentración de glucosa en orina
3. Los niveles de hemoglobina u otras proteínas ligadas a azúcares reductores o proteínas glicadas (Roth, 1983; Kennedy, 1992).

De acuerdo con las recomendaciones del comité de expertos de la *American Diabetes Association*, organismo encargado de evaluar los avances en el conocimiento acerca de la DM, los criterios para obtener un diagnóstico de DM con base en la determinación de la concentración de glucosa en sangre, deben abocarse a los tres procedimientos generales siguientes:

- 1) Síntomas de diabetes (poliuria, polidipsia y pérdida de peso) más concentración de glucosa plasmática al azar (a cualquier hora del día)  $\geq 200$  mg/dL (11.1 mmol/l).
- 2) Glucosa plasmática en ayunas (al menos de 8 horas)  $\geq 126$  mg/dL (7.0 mmol/l).
- 3) Realizar mediciones mediante pruebas de tolerancia a la glucosa orales (PTGO).

Un nivel de glucosa plasmática en ayunas igual o superior a 126 mg/dL en dos ocasiones indica que la persona es diabética; si las mediciones se hacen al azar, el valor de la glucemia no debe sobrepasar los 200 mg/dL en más de una ocasión. La limitación de estos dos primeros procedimientos es que, en algunos casos, no pueden detectar disfunción metabólica (debido a que estas pruebas son poco sensibles), lo que hace necesario, realizar PTGO, sobre todo en aquellos pacientes con glucemias en ayunas entre 116 y 125 mg/dL (Nelson, 1988; Singer y col., 1989; Trujillo y col., 1996).

Para realizar una PTGO se requiere de la ingesta de glucosa siendo de 75 g por individuo en adultos y de 1.75 g/kg en niños. La prueba se realiza después de un ayuno de 10 a 16 horas y se toman muestras sanguíneas en ayunas, 30, 60, 120 y 180 minutos después de la carga de glucosa. Los sujetos deben ingerir durante los tres días previos al estudio mínimo 150 g diarios de carbohidratos. Un diagnóstico positivo de DM, mediante esta prueba, se obtiene cuando al menos dos valores de glucosa plasmática son mayores o iguales a 200 mg/dL, incluyendo el valor a las 2 horas (ADA, 1997).

En un paciente diabético la PTGO no debe realizarse, ya que contribuiría a agravar el estado diabético el paciente (Nelson, 1988; Nathan, 1989).

La medición de glucosa urinaria, por su parte, es generalmente una prueba diagnóstica inadecuada. Aunque es útil para detectar pacientes cuya hiperglucemia está produciendo exceso de orina, aún en este caso es necesario confirmar el diagnóstico con una prueba de glucosa sanguínea (Singer y col., 1989).

La medición de hemoglobina glicada principalmente HBA1 (antes conocida como hemoglobina glucosilada) puede servir en el diagnóstico de la DM (Roth, 1983). Sin embargo, la prueba en general es incapaz de detectar casos de diabetes leve o con disminución de tolerancia a la glucosa. En algunos casos, la prueba puede dar resultados positivos para la diabetes, cuando en realidad se trata de sujetos sanos, por lo que para obviar

esta dificultades, el médico debe confirmar todas las pruebas de hemoglobina glicada elevada con una PTGO (Medow, 1997).

En general, se puede decir que los criterios diagnósticos basados en la hemoglobina glicada correlacionan bien con los correspondientes basados en la glucemia. Una glucemia inferior a 160 mg/dL corresponde con valores de HbA1c menores a 9%, glucemias entre 169 y 230 mg/dL correlacionan con valores de HbA1c de 9 a 11%. Valores más altos de glucosa plasmática con intervalos de 230 a 310 mg/dL equivalen a HbA1c de 11 a 14% (Singer y col. 1989; Tchobrousky, 1991).

Se acepta de manera general que los cambios metabólicos y tisulares característicos de la diabetes mellitus pueden evitarse mediante un adecuado control de la glucemia. Dado que la glucemia en los diabéticos se encuentra alta como consecuencia de la falta de actividad insulínica, en algunos casos la tendencia en el tratamiento ha sido administrar insulina exógena y en otros incrementar de alguna manera la secreción y/o la actividad de la insulina endógena. El tratamiento de la diabetes mellitus se realiza fundamentalmente con base en cuatro factores que son: la educación del paciente, ejercicio físico, dieta adecuada y medicamentos hipoglucemiantes (Chenault, 1979; ADA, 1990, Vinik y Richardson, 1997; Baliga y Fonseca, 1997).

La educación del paciente en cuanto a su enfermedad, debe iniciar con una comprensión de los aspectos de la DM, esto es, para que el paciente participe activamente en el manejo de su enfermedad, debe conocerla por lo menos en sus principales aspectos etiológicos, de diagnóstico, control y complicaciones. La instrucción del paciente diabético debe abarcar también conocimientos de: hábitos higiénicos, cuidados de la piel y de los pies; cuidado dental y de la vista; y de salud general. Así como, vigilancia de la glucemia y glucocetonuria, técnicas de inyección, características de los comas hipoglucémico y cetoacidótico, como prevenirlos, identificarlos y tratarlos. El control de la DM será efectivo siempre y cuando el paciente participe en él activamente, ya que la responsabilidad cotidiana del control de la DM recae en el propio enfermo, quedando al médico una supervisión y asesoría. Sin la colaboración del enfermo, la dieta, el ejercicio físico y la fármaco-terapia quedan invalidados en cuanto a su objetivo principal (Rubín y col., 1989; Brennan, 1996).

El ejercicio físico, es necesario en los pacientes diabéticos, porque aumenta considerablemente la utilización de la glucosa, ácidos grasos y cuerpos cetónicos circulantes en la sangre, fortalece los músculos, mantiene en todos los tejidos y órganos la circulación sanguínea óptima, evita el almacenamiento de grasa, mantiene la elasticidad y aumenta la resistencia general del organismo, disminuye la angustia y la ansiedad y mejora el sueño y bienestar (Gulias-Herrero y Gómez-Pérez, 1997; Larsen y col., 1997).

La dieta, ha jugado un papel fundamental en la diabetes mellitus, es aún la base del tratamiento en diabéticos obesos y un factor indispensable en la terapia insulínica o con hipoglucemiantes orales (Derot and Tchobrousky, 1970). La dieta es importante en el control del peso corporal, ya que la obesidad está relacionada con la disminución en el número de receptores para la insulina y por consiguiente con el desarrollo de resistencia a esta hormona. Además de lo anterior, existen reportes que indican que la dieta rica en fibra reduce la glucosa sanguínea (White, 1996; Valiga y Fonseca, 1997).

La dieta tiene un papel muy importante en el tratamiento de la diabetes mellitus, sin embargo, en la mayoría de los casos es incapaz por sí sola de normalizar los disturbios en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas característicos de este padecimientos, por lo que se hace necesario recurrir a los medicamentos

Se debe recurrir a los medicamentos hipoglucemiantes en todos aquellos casos de DM en los que la dieta y el ejercicio físico resulten insuficientes para normalizar la glucemia. Dentro de los medicamentos hipoglucemiantes se encuentra la insulina y los hipoglucemiantes orales: sulfonilureas, biguanidas y acarbose (Gómez-Pérez y Rull, 1997; García-García, 1997).

El descubrimiento de la insulina fue un paso trascendental en el tratamiento de la diabetes mellitus. El uso de la insulina ha permitido aumentar considerablemente la sobrevida de los pacientes diabéticos. No obstante, estudios recientes indican que la terapia insulínica no siempre puede evitar las complicaciones vasculares de la diabetes mellitus (Stout, 1979). Las investigaciones acerca de esta hormona se han dirigido hacia la obtención de insulinas con mayor grado de pureza y se ha logrado comercializar una insulina porcina (Inouye, 1979) y otra totalmente humana sintetizada mediante la técnica del ADN-recombinante (Gait, 1979; Chance y Frank, 1993). Por otro lado, la administración parenteral de la insulina algunas

DOCUMENTACIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS RECURSOS

veces produce en los pacientes reacciones adversas debido al método en sí mismo y al dolor e incomodidad que representa (Zárate, 1989).

Desde el descubrimiento de la insulina se ha intentado en vano obtener este compuesto en una forma que libere a los pacientes de la necesidad de las inyecciones diarias. No fue sino hasta después del descubrimiento de los hipoglucemiantes orales, con la introducción de las sulfonilureas (en 1942) y de las biguanidas (en 1957) que este problema pudo superarse parcialmente pues su uso terapéutico se limita a individuos con diabetes mellitus tipo 2 (Loubatieres, 1957; Glombik, 1986; Judzewitsch y col., 1982; Vigneri y col., 1982).

En la actualidad los medicamentos orales para tratar la hiperglucemia de los diabéticos no insulondependientes son las sulfonilureas de “primera generación” (tolbutamida, tolazamida, acetohexamida y cloropropamida) las de “segunda generación” (glibenclamida y glipicida) y las biguanidas (fenformina y metformina).

El mecanismo de acción de las sulfonilureas consiste en estimular al tejido insular del páncreas para secretar insulina, causando desgranulación de las células  $\beta$ . No tienen efecto en pacientes totalmente pancreatectomizados y en diabéticos insulindependientes, tienen la capacidad de inhibir la liberación de catecolaminas.(Faber y col., 1990; Gómez-Pérez y Rull, 1997).

Las biguanidas producen hipoglucemias sin causar cambios detectables en la concentración de insulina plasmática, aunque para manifestar su acción requieren la presencia de ésta. Estos fármacos, inhiben el metabolismo oxidativo provocando un aumento en la captación de glucosa para metabolizarla en forma anaerobia hasta ácido láctico, también producen una disminución en la unión de la insulina a las proteínas del plasma (Katzung, 1996; García-García, 1997).

La acarbosa, constituye al grupo de los inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasas que actúan en la luz del intestino, evitando que los enterocitos absorban los monosacáridos que se obtienen de la digestión de los alimentos. Disminuye la glucemia postprandial, el área bajo la curva glucémica, la glucosilación de la hemoglobina, la insulina postprandial y las concentraciones séricas de lípidos (ANM, 1997).

Es indudable el beneficio que han recibido millones de diabéticos en todo el mundo con el desarrollo de metodologías para la extracción, purificación y producción a gran escala de la insulina y de los hipoglucemiantes orales. Sin embargo, ninguno de éstos ha probado ser el medicamento ideal.

Aunque son innegables los éxitos obtenidos en el control del paciente diabético aún quedan muchos problemas por resolver como son la administración y dosificación correcta de la insulina e hipoglucemiantes orales.

El problema de la dosificación de la insulina se ha tratado de resolver con :

a) Transplante de páncreas. Aunque en sus inicios se encontró con muchos problemas técnicos, que actualmente ya han sido superados en su mayor parte, aún continúa sin resolverse el problema de histocompatibilidad, el cual lleva casi invariablemente al rechazo del órgano trasplantado (Jonasson, 1979; Sutherland, 1981; Román Ramos, 1984).

b) Injerto de islotes pancreáticos. Las complicaciones del trasplante de páncreas debido a la presencia de tejido exocrino, llevaron a iniciar las investigaciones para la obtención, cultivo y trasplante de islotes pancreático. No obstante, el problema principal sigue siendo el rechazo del injerto (Sutherland, 1981; Reemtsa col., 1979; Meza-Mendoza y col., 1997).

c) Implantación de bombas de insulina. Éstas tratan de imitar a la célula  $\beta$  del páncreas en cuanto a la liberación de insulina. Están integradas por un sensor que determina el nivel de glucosa en la sangre, un microprocesador de datos que determina la cantidad de insulina que necesita el organismo tomando en cuenta la glucemia y una bomba con depósito de insulina, para liberar a ésta de acuerdo a la orden recibida del microprocesador (Pickup and Kleen, 1980). El principal problema que no se ha resuelto, es que no se ha encontrado un material inerte que al estar en contacto de manera permanente con la sangre no sea cubierto con fibrina (Watkins, 1980; Saudek y col., 1996).

Las perspectivas antes mencionadas son muy costosas y no se encuentran al alcance de la población masiva de los países en vías de desarrollo. Por lo anterior más del 70% de la población mundial tiene que recurrir a la medicina tradicional como única alternativa a su alcance, para resolver sus principales necesidades de salud (Farnsworth y col.,1989).

El conocimiento y uso de las plantas medicinales sigue siendo parte importante de la medicina tradicional dentro de las comunidades rurales y sobre todo de las indígenas, quienes durante siglos han preservado sus conocimientos empíricos sobre las propiedades de las plantas, transmitiéndolas y ensayándolas a lo largo de generaciones (Castro, 1988).

El uso de las plantas en la cura y control de diferentes enfermedades tiene orígenes muy remotos. Los primeros indicios de su empleo medicinal se remontan a los pueblos asiáticos y posteriormente, a los egipcios, hebreos y fenicios, entre 8000 y 2000 años a. de C. Más tarde, su uso se difundió entre los griegos y posteriormente en el mundo occidental antiguo. A principios de nuestra era surgen las primeras descripciones de plantas medicinales por Teofrasto, Galeno y Celso, así como en las culturas prehispánicas de Mesoamérica. Se tienen vestigios antropológicos acerca de las prácticas de quienes pudieron ser los hechiceros o magos que preparaban pócimas para curar, dañar o simplemente mezclar hierbas y plantas durante el ritual mágico practicado en el proceso curativo de los enfermos (Alarcón y col., 1993; Morales, 1994).

A la llegada de los españoles, éstos encontraron un amplio conocimiento que tenían nuestros ancestros sobre la flora medicinal. Prueba de ello, es el primer libro escrito sobre plantas medicinales mexicanas llamado "*Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*" por Martín de la Cruz, traducido al latín por Juan Badiano y publicado en el año 1552.

El conocimiento sobre plantas medicinales ha sido transmitido a través de los siglos en forma oral causando que la información se pierda o altere, por lo cual la etnobotánica, que es el estudio de las relaciones que existen entre el hombre y su ambiente vegetal, trata de rescatar la información que de esta forma verbal llega hasta nuestros días y que conforma lo que actualmente se conoce acerca del uso de las plantas (Villa, 1991). Barrera define a la etnobotánica como el estudio del conocimiento, significación cultural, manejo y usos tradicionales de la flora por un grupo étnico (Barrera, 1982).

Es importante hacer énfasis en que las formas de interacción hombre-naturaleza son el resultado de los conocimientos ecológicos y del manejo y utilización de los recursos naturales (vegetación, flora, fauna y suelo) que han desarrollado los grupos humanos. Así, Caballero hace hincapié en que una amplia gama de formas de manipulación de los elementos del entorno vegetal han proporcionado un amplio conjunto de recursos útiles para la subsistencia y desarrollo de las civilizaciones (Caballero, 1987).

La OMS ha intentado convencer a los países pobres sobre la riqueza y potencialidad de su medicina tradicional, la cual ha sobrevivido durante muchos siglos incluso en lugares donde los habitantes tienen fácil acceso a los servicios de medicina moderna (Bannerman, 1980). Dicha organización define a la medicina tradicional como “la suma de todos los conocimientos teóricos y prácticos utilizables para diagnóstico, prevención y supresión de trastornos físicos o sociales basados exclusivamente en la experiencia y observación transmitidos verbalmente o por escrito de una generación a otra”, en tanto que Jave la define como “aquellas acciones de atención a la salud realizadas por nuestros antepasados, que están ligadas a cada cultura o pueblo y que se han ido transmitiendo de generación en generación hasta la actualidad” (Jave, 1985).

Según Aguilar (Lozoya y col., 1989), la medicina tradicional se define como “un conjunto de conocimientos y prácticas generados en el seno de una comunidad, transmitidos generacionalmente y que, basados en un saber fundamentalmente empírico, ofrecen e intentan dar soluciones a las diversas manifestaciones de la enfermedad, buscando propiciar la salud de la comunidad en la que fueron generados y debido a que este acervo de conocimientos forma parte de la cultura popular, está sujeto a cambios que propician su desarrollo, de tal manera que algunos conocimientos pueden perderse pero pueden encontrarse otros al correr del tiempo”.

A partir de los años 70's, en México se renovó el interés académico por investigar la flora medicinal y la medicina indígena debido a que, en nuestro país, la cubierta vegetal es una de las más variadas de la tierra (Lozoya, 1993). En el territorio mexicano están representados todos los grandes biosistemas que se han descrito en la superficie de nuestro planeta, por lo que cuenta con una enorme riqueza de plantas medicinales (Rzedowski, 1987). A pesar de lo anterior, la vegetación ha ido disminuyendo tanto en diversidad como en abundancia,

conforme va siendo destruida con fines económicos o por el exceso de depredación. La disminución de la riqueza florística, está contribuyendo parcialmente al empobrecimiento de los conocimientos tradicionales, aunados a los procesos de transculturación, que son de mayor trascendencia en este hecho, de ahí la necesidad de rescatarlos, mediante la realización de investigaciones abarcando las diferentes líneas que se pueden seguir en el campo de la Etnobotánica (Chino,1986).

En la actualidad, se observa una tendencia hacia el uso directo de las plantas en forma de infusiones o extractos de las mismas como medios curativos. El uso de plantas para evitar la pérdida de peso, fatiga, diuresis, trastornos digestivos, apetito exagerado y sed excesiva, síntomas propios de la diabetes, y que se presentan en otro tipo de enfermedades, explican que numerosas plantas se usen por extensión para curar la diabetes. Curiosamente la etiología de la diabetes era desconocida hasta fines del siglo pasado (Martínez, 1980).

La medicina moderna, ha visto casi siempre con desprecio e indiferencia a los practicantes de la medicina tradicional y a la mayor parte de sus procedimientos terapéuticos. Sin embargo, es importante anotar que las prácticas curativas de la medicina tradicional, se basan en tres recursos principales: plantas, animales y minerales, que por sus cautelosas administración y dosificación, conservadas de manera empírica, generalmente resultan inocuas, no yatrogénicas, a diferencia de lo que frecuentemente se tiene con el uso de medicamentos de patente (Del Campo, 1976; Capasso y col.; 1980).

Dentro de la llamada medicina tradicional se encuentran las denominadas plantas medicinales, es decir, aquellas con actividad farmacológica, que puestas en contacto con un organismo humano o animal producen sobre éste una terapia (Capasso y col.; 1980; Capasso, 1985).

Es importante recordar que la medicina moderna se ha valido de una gran cantidad de recursos y fármacos procedentes de la medicina tradicional para desarrollar el arsenal farmacéutico contemporáneo. Puesto que un alto porcentaje de fármacos de origen vegetal fueron el resultado del estudio científico de plantas cuyas propiedades medicinales eran bien conocidas en la herbolaria, podemos inferir que dichos estudios son un método apropiado para el descubrimiento de nuevos medicamentos (Farnsworth y col., 1989).

Debido al gran número de estudios etnobotánicos existentes resulta difícil precisar la cantidad de especies medicinales usadas mundialmente en el tratamiento de la DM. Sin embargo, el análisis de la literatura existente al respecto, nos permite estimar que el número de plantas usadas tradicionalmente como antidiabéticas es superior a 800. Con el reciente interés mostrado por la OMS en la práctica de la medicina tradicional, se logró motivar la realización de gran número de estudios enfocados hacia la validación de la acción hipoglucemiante de las plantas antidiabéticas y esto ha permitido que a la fecha, por lo menos en forma parcial, se haya evaluado casi la mitad de las plantas registradas etnobotánicamente (Lamela y col., 1986; Ali-Ajabnor y Karim, 1988; Ivorra y col., 1989; Atta-ur-Raman y Zaman, 1989). De acuerdo con Bayley y Day (1989), las plantas antidiabéticas se pueden agrupar en dos grandes categorías:

1. Plantas que no han sido estudiadas científicamente y que representan aproximadamente un 60 %.
2. Plantas cuyas propiedades antidiabéticas han sido estudiadas científicamente.

Las plantas que si se han estudiado (aproximadamente 300 especies) se clasifican de acuerdo al tipo de estudio realizado :

- a) Plantas a partir de las cuales se ha logrado caracterizar parcial o totalmente un agente hipoglucemiante potencial. Los compuestos químicos identificados son polisacáridos, proteínas, esteroides y productos relacionados (Akhtar y col., 1984).
- b) Plantas cuyo efecto hipoglucémico se ha podido demostrar en diferentes modelos animales y/o en el hombre pero cuyos principios activos no han sido purificados. De las más de 200 plantas cuyo uso popular ha sido validado científicamente, sólo en el 10 % se han efectuado estudios clínicos. (Karunanayake y col., 1990; Kamani y col., 1994).
- c) Plantas que al evaluarse en diferentes animales de laboratorio no mostraron efecto hipoglucémico importante. (Husni y col., 1983; Warren, 1983).

En la mayoría de los trabajos realizados con plantas antidiabéticas se hace notoria la necesidad de realizar estudios etnobotánicos convenientes para entender las interpretaciones populares acerca de la diabetes mellitus, así como el preciso estado clínico por el cual una determinada planta se prescribe, ya que algunas de ellas se utilizan para combatir los síntomas principales de la diabetes mellitus, mientras que otras se usan más bien para aliviar las complicaciones crónicas del padecimiento, aunque también son consideradas por la población como plantas antidiabéticas (Alarcón, 1997).

Una de las plantas más utilizadas por la población mexicana en el control de la diabetes mellitus y de la cual a la fecha no se tienen suficientes evidencias a nivel experimental es *Lepechinia cualescens*, cuya descripción botánica es la siguiente: pertenece a la familia de las labiadas, es una planta herbácea, anual o perenne, subarborescente, tallo generalmente cuadrangular y ascendente, de hasta 80 cm de alto, simple o poco ramificada, levemente pubescente, hojas con peciolo hasta de 1 a 3 cm de largo, limbo ovalado a ovalado-lanceolado, de 2.5 a 15 cm de largo por 1.5 a 7 cm de ancho, ápice agudo o acuminado, margen crenado, base cuneada a truncada, escasamente pubescente, inflorescencia en espiga terminal, apretada, brácteas anchamente ovaladas, acuminadas; cáliz acampanado, de 6 a 8 mm de largo, hasta de 12 mm en fruto, dientes linear-lanceolados, pilosos con puntitos resinosos, cristalinos, corola blanca, de 7 a 9 mm de largo; estambres insertos en el tubo de la corola, inclusos; mericarpios ovoides de más o menos 2 mm de largo, lisos, de color negro. Ampliamente distribuidas en las partes montañosas más húmedas del valle de México. Alt. 2250 - 3300 m. En bosque de coníferas mixtos, en claros cercanos a los bosques y a veces a la orilla de arroyos o cerca de cultivos (Morton, 1990).

Cabe mencionar que en México además del valle del mismo nombre, la encontramos principalmente en los siguientes estados: Chihuahua, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro y Veracruz (Rzedowski, 1987).

Las plantas pertenecientes a la familia Labiatae han despertado gran interés debido a que algunos metabolitos secundarios aislados de ellas han demostrado un potencial farmacológico importante, tal es el caso del flavonoide cirsimarina que posee una actividad antibacterial, o

la actividad inhibitoria mostrada por los aceites esenciales de numerosas labiadas en cultivos de bacterias responsables de malestares en las vías respiratorias. Los ácidos caféico y rosmarínico, son particularmente activos en contra de *Mycobacterium tuberculosis*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Staphylococcus proteus* (Hernández, 1987; Sánchez, 1988). Sin embargo, en el caso concreto de *L. caulescens* hasta este momento no se han hecho investigaciones suficientes dirigidas al aislamiento e identificación química de la(s) sustancia(s) responsable(s) de la actividad hipoglucemiante reportada en la preparación tradicional de la planta.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ausencia de un control idóneo para la diabetes mellitus (DM), ha llevado a un aumento considerable de la morbi-mortalidad de este padecimiento, el cual no reconoce fronteras territoriales, posición económica, raza o religión y representa uno de los más grandes problemas de salud pública en el nivel mundial.

Varios millones de mexicanos en edad productiva tienen diagnosticada DM, a nivel mundial se calcula que por cada paciente con diabetes diagnosticada existe otro que la padece, sin estar diagnosticada todavía. De aquí que el porcentaje de pacientes diabéticos oscile entre el 3 y 6 % de la población (Román y col.; 1994).

La DM como causa de muerte en México se encontraba en noveno lugar en 1980. En 1994, la DM alcanzó el cuarto lugar, cobrando la vida de más de 30 mil personas (Alberti, 1997). La DM es la enfermedad crónico-degenerativa que más daña a la economía nacional debido a que incapacita laboralmente a la población.

Actualmente existen varias perspectivas para lograr un mejor control de la diabetes mellitus, entre las cuales podemos citar a los trasplantes segmentario y total del páncreas, al injerto de células  $\beta$  pancreáticas solas e híbridas y a la implantación de páncreas artificial (bomba de infusión de insulina y glucagón). Estos métodos todavía no han podido superar algunos problemas técnicos y por su alto costo no se encuentran al alcance de la mayoría de los pacientes diabéticos, quienes tienen que recurrir a la medicina tradicional como único recurso a su alcance.

La medicina tradicional controla a los pacientes diabéticos con base en preparaciones obtenidas de plantas medicinales. En México, la población utiliza en forma empírica alrededor de 150 plantas como antidiabéticas (Alarcón, 1990). Más de la tercera parte de ellas ya ha sido evaluada experimentalmente, convalidándose el efecto hipoglucémico en varias (Alarcón y col., 1993). A pesar de que estas plantas representan una alternativa viable para la obtención de nuevos medicamentos hipoglucemiantes orales, hasta ahora no se han realizado

estudios dirigidos hacia el aislamiento y purificación química de la sustancia responsable del efecto hipoglucémico detectado experimentalmente. La investigación se ha limitado al estudio antihiperoglucémico de las preparaciones tradicionales (Román, 1992).

El uso de preparaciones tradicionales para el control de pacientes diabéticos puede tener varios problemas como es la dosificación del principio activo. Ésta puede variar por diversas causas entre las que destacan el tipo de preparación tradicional (infusión, decocción acuosa, jugo, etc.). Además la concentración del principio activo no es la misma en las diferentes partes de la planta y aún en la misma parte puede haber variaciones dependiendo de la edad y estado fisiológico de la planta, la época del año, la altitud de la región, etc. Para todos es sabido que la dosificación de la sustancia biológicamente activa es muy importante en la terapéutica. Si la dosis es menor a la requerida (subumbral) no se tendrá el efecto terapéutico, en tanto que si es muy grande puede resultar tóxica y hasta letal. Los problemas mencionados podrían evitarse con el uso de sustancias hipoglucemiantes puras y a partir de éstas podrían desarrollarse, previa investigación farmacológica experimental y clínica, agentes hipoglucemiantes orales.

Tomando en cuenta lo anterior, es necesario realizar estudios químico-farmacológicos dirigidos al aislamiento e identificación de las(s) sustancia(s) responsable(s) de la actividad hipoglucemiente reportada a nivel empírico por la población y validada a nivel experimental para las plantas más usadas en el control de la diabetes (Alarcón y col., 1993).

Por la magnitud del efecto antihiperoglucémico reportado, su amplia distribución y uso popular como antidiabética *Lepechinia caulescens* se perfila como candidata idónea para ser investigada en esta dirección.

## 2.1. HIPOTESIS

La actividad hipoglucemiente de la decocción acuosa de la inflorescencia de *Lepechinia caulescens* observada experimentalmente se debe a la presencia de por lo menos una sustancia química la cual puede ser identificada y aislada en experimentos biodirigidos empleando una metodología extractiva basada en el empleo de disolventes de polaridad creciente, seguida de métodos cromatográficos.

## 2.2. OBJETIVOS

### 2.2.1. OBJETIVO GENERAL

Iniciar un estudio químico-farmacológico dirigido a la separación (aislamiento) e identificación de la(s) sustancia(s) responsable(s) del efecto hipoglucémico de la decocción acuosa de la inflorescencia de planta *Lepechinia caulescens*.

### 2.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Estudiar la influencia de la decocción acuosa de *Lepechinia caulescens* sobre la glucemia de animales sanos y diabéticos.
2. Obtener extractos orgánicos y acuosos de *Lepechinia caulescens* y realizar el estudio farmacológico en animales sanos.
3. Iniciar estudios que conlleven a la caracterización o en su caso al aislamiento e identificación del agente causante del efecto hipoglucémico.

### 3. MATERIAL Y METODOS

#### 3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

##### 3.1.1. Animales de experimentación

54 conejos Nueva Zelanda, adultos, machos de 2.5 a 3.5 Kg de peso corporal, alimentados con nutricubos purina y agua *ad libitum*.

170 ratones *Mus musculus* cepa CD-1, adultos, machos, de 25 a 35 g de peso corporal, alimentados con nutricubos purina y agua *ad libitum*.

##### 3.1.2. Material vegetal

*Lepechinia caulescens*, colectada durante la floración (4 kg de la planta) en el mes de agosto, obteniéndose 2 kilos de inflorescencias secas después de la molienda. Un ejemplar de herbario fue depositado en el herbario de plantas medicinales del Instituto Mexicano del Seguro Social (Herbario IMSS-M), con número de registro 11477.

#### 3.2. METODOLOGIA

##### 3.2.1. Colecta de la planta y preparación de la decocción acuosa de las inflorescencias *Lepechinia caulescens*

La planta se obtuvo de manera fresca procedente de la ciudad de Puebla, fue desecada a la sombra (sin exposición directa a los rayos solares), a temperatura ambiente durante 10 días. Posteriormente se procedió a la separación de las inflorescencias, las cuales se colocaron en paquetes secos y limpios.

La decocción se preparó de la manera siguiente: la planta (40 g de inflorescencias) se hirvió a fuego lento en 300 mL de agua potable durante 10 minutos, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró, desechándose el residuo sólido. El líquido filtrado se utilizó para los estudios farmacológicos.

### 3.2.2. Estudio farmacológico de la decocción acuosa de las inflorescencias de *Lepechinia caulescens*

#### 3.2.2.1. Ensayos biológicos en conejos

Se estudiaron 54 conejos con las características citadas anteriormente, en 3 grupos de 18 animales cada uno: conejos sanos con hiperglucemia temporal, conejos con diabetes moderada y conejos con diabetes severa. Los conejos antes de cada estudio se sometieron a ayuno de 18 horas y se pesaron. A cada grupo se le realizó un estudio cada siete días durante 4 semanas de la siguiente manera:

- 1a. semana. Estudio control con la administración gástrica a través de una sonda, de agua potable a razón de 4 mL/kg de peso corporal.
- 2a. semana. Estudio con la administración gástrica de tolbutamida (Artosin tabletas de 0.5 g, Lakeside) a razón de 20 mg/por kg de peso corporal, usando el volumen de agua citado para el estudio control.
- 3a. semana. Estudio con administración gástrica de la decocción acuosa de *Lepechinia caulescens* a razón de 4 mL/kg equivalentes a 102 mg de peso seco de la planta/kg de peso corporal.
- 4a. semana. Estudio con la administración gástrica de agua potable a la dosis citada e insulina regular o de acción rápida (Humulin R, Lilly) por vía subcutánea a razón de 0.4 U.I./kg de peso corporal.

##### 3.2.2.1.1. Conejos sanos con hiperglucemia temporal

Los ensayos biológicos se realizaron en este grupo de conejos de la forma siguiente:

1. Toma de muestra sanguínea (32  $\mu$ l) de la vena marginal de la oreja izquierda y determinación de la glucemia inicial (en ayunas) por el método enzimático glucosa-oxidasa peroxidasa empleando tiras reactivas Haemoglucotest 20-800 R y el reflectómetro Reflolux S Boheringer Mannheim (Lakeside).

2. Administración en la forma ya descrita (3.2.2.) de agua potable, tolbutamida, decocción de *Lepechinia caulescens* o agua más insulina seguida de la administración subcutánea de solución de glucosa al 50% a razón de 4 mL/kg de peso corporal.
3. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia a los 60 minutos y repetición de la administración de la solución de glucosa en la misma forma y volumen.
4. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia en los minutos 120, 180, 240 y 300.

#### 3.2.2.1.2. Conejos con diabetes moderada (glucemia en ayunas de 150 a 350 mg/dL)

La diabetes se les indujo a estos conejos mediante la administración, en la vena marginal de la oreja derecha, de aloxana monohidratada (Sigma) disuelta en solución isotónica de cloruro de sodio (Abbott) en una dosis de 150 mg/kg por el método de Duffy (Duffy,1945). Después de un periodo de estabilización de una semana se les estudió de la manera siguiente:

1. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia inicial (en ayunas).
2. Administración de agua, tolbutamida, decocción de *Lepechinia caulescens* o agua e insulina en la forma, dosis y vía citadas.
3. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia en los minutos 60, 120, 180, 240 y 300.

#### 3.2.2.1.3. Conejos con diabetes severa (glucemia en ayunas superior a 350 mg/dL)

A estos conejos se les indujo la diabetes y se les estudió en la forma descrita para el grupo anterior.

### 3.2.2.2. Ensayos biológicos en ratones

#### 3.2.2.2.1. Ratones sanos

Se formaron 3 grupos de 10 ratones cada uno, los cuales se estudiaron después de 18 horas de ayuno, previo al ayuno se les realizó llenado de bebederos con agua potable, cambio de camas y traslado al sitio de investigación. Los ensayos farmacológicos se realizaron de la manera siguiente:

1. Toma de muestra sanguínea (32  $\mu$ l) por corte transversal de la cola y con la ayuda de un capilar heparinizado, determinación la glucemia inicial (en ayunas) por el método antes descrito.
2. Administración intraperitoneal de:
  - a) Solución salina (SSI) a razón de 4 mL/kg de peso corporal a los animales del grupo I.
  - b) La decocción acuosa de *Lepechinia caulescens* por vía intraperitoneal a razón de 4 mL equivalentes a 102 mg de peso seco de la planta/ kg de peso corporal a los animales del grupo II.
  - c) Solución salina en el volumen citado e insulina regular (acción rápida) a razón de 0.4 U.I./kg de peso corporal del grupo III.
3. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia al minuto 120 y 240.

#### 3.2.2.2.2. Ratones diabéticos

Se les indujo diabetes experimental por el método de Duffy (Duffy,1945) mediante la administración por vía intraperitoneal de 150 mg/kg de tres dosis de aloxana cada 48 horas en tres ocasiones.

Se formaron 3 grupos de ratones diabéticos a los cuales se les realizó el siguiente ensayo farmacológico:

1. Toma de muestra sanguínea colectada en un capilar heparinizado y determinación de la glucemia basal (t = 0 min).

2. Administración intraperitoneal del liofilizado de *Lepechinia caulescens* a razón de 200 y 400 mg/kg de peso corporal y de ssi a razón de 4 mL/kg .
3. Determinación de la glucemia al minuto 120 y 240.

### 3.3. OBTENCION Y ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LOS EXTRACTOS

Se pesaron 250 g de inflorescencia seca y molida y se colocaron en un percolador, para realizar extracciones con disolventes de polaridad creciente: hexano, cloruro de metileno, metanol y agua (aproximadamente 1 litro de cada uno de ellos).

La primera extracción consistió en poner en contacto el disolvente correspondiente con la planta durante un tiempo de 15 minutos. Las siguientes 3 extracciones fueron con una duración de 30 minutos y las últimas 3 con un tiempo de una hora.

La solución obtenida (disolvente más extracto) de la maceración se filtró en cada cambio y se concentró en un rotavapor. El criterio que se tomó para suspender cada extracción fue al momento en que dejaba de concentrarse el extracto en el rotavapor. Los extractos resultantes se pesaron en balanza analítica. Para calcular los rendimientos respectivos se consideró el peso de la inflorescencia seca como el 100% y se aplicó una regla de tres simple tomando en cuenta el peso de cada extracto. La dosis administrada a los animales en estudio, fue de 100 mg/kg de peso corporal.

Para valorar el efecto hipoglucémico de los extractos obtenidos se formaron 8 grupos de 10 ratones, los cuales se estudiaron después de tomar en cuenta las condiciones previas ya descritas. Los ensayos farmacológicos consistieron en los siguiente:

1. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia inicial (en ayunas).
2. Administración intraperitoneal de controles, fármacos y extractos de acuerdo al siguiente cuadro:

Grupo	Estudio
I	Solución salina isotónica (4mL/kg)
II	Aceite de maíz (4 mL/kg)
III	Insulina acción rápida (0.4 U.I.)
IV	Decocción acuosa (4 mL/kg = 102 mg)
V	Extracto hexánico (100 mg/kg)
VI	Extracto diclorometánico (100 mg/kg)
VII	Extracto metanólico (100 mg/kg)
VIII	Extracto acuoso (100 mg/kg)

Los controles o vehículos (solución salina isotónica y el aceite maíz) y los extractos obtenidos se administraron, previa resuspensión en un vehículo adecuado, por vía intraperitoneal a ratones CD-1, para las pruebas biológicas correspondientes.

3. Toma de muestra sanguínea y determinación de la glucemia en los minutos 120 y 240.

#### 3.4. OBTENCION Y ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LAS FRACCIONES

El extracto con mayor efecto hipoglucémico fue sometido a fraccionamiento con la ayuda de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en columna preparativa, con un “loop” de 100 µl y en una relación de 65:35 metanol : agua, observándose en el cromatograma tres picos (tres fracciones del extracto).

Para valorar el efecto hipoglucémico de las fracciones obtenidas, éstas fueron administradas por vía intraperitoneal, de acuerdo con el siguiente cuadro:

Grupo	Estudio
I (n = 10)	Sol. salina isotónica (4 mL/kg)
II (n = 10)	Fracción I (100 mg/kg)
III (n = 10)	Fracción II (100 mg/kg)
IV (n = 10)	Fracción III (100 mg/kg)

Las pruebas biológicas se realizaron de la manera antes descrita para los extractos.

### 3.5. ANALISIS ESTADISTICO

#### 3.5.1. Decocción acuosa en conejos:

Los resultados obtenidos de la investigación de la actividad hipoglucemiante de la decocción acuosa de *Lepechinia caulescens* en conejos se sometieron a análisis estadístico de la manera siguiente:

- a) En cada estudio se calcularon las concentraciones medias de glucosa y su desviación estándar en todos los puntos determinados de la curva de tolerancia a la glucosa resultante.
- b) Se calculó la t de Student para muestras independientes de una sola cola. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con una  $p < 0.05$ .

### 3.5.2. Extractos y fracciones poseedores de la mayor actividad hipoglucemiante:

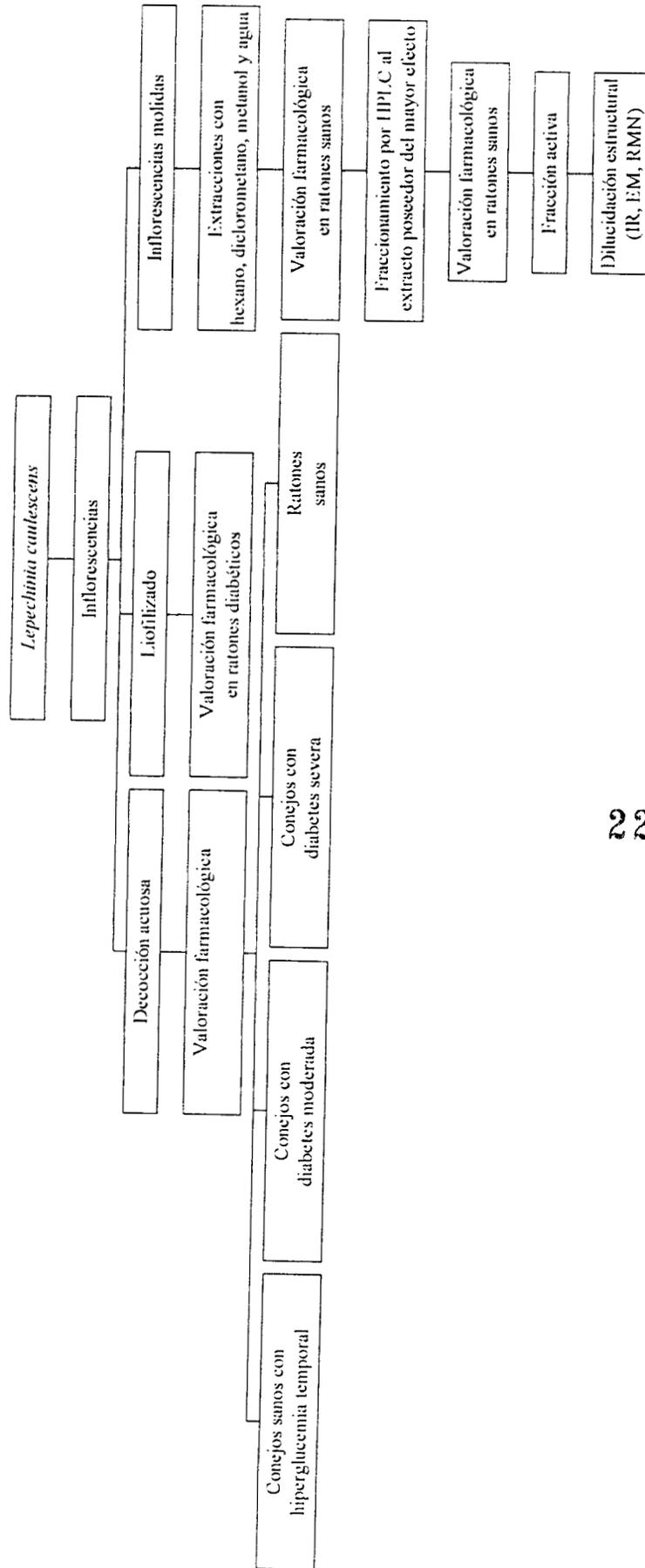
Los resultados obtenidos en cada una de las pruebas farmacológicas se sometieron a un análisis estadístico y se expresaron como media y desviación estándar (D.E.). Para evaluar la diferencia entre los controles (ayuno, solución salina isotónica, aceite de maíz e insulina) y las sustancias en estudio (preparación tradicional, extractos y fracciones), se calculó la t de Student. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con una  $p < 0.05$ .

Se calculó también la disminución de la glucemia en % inducida por la administración de extractos y fracciones de éstos.

### 3.6. ESPECTRO INFRARROJO DE LA FRACCION CON MAYOR ACTIVIDAD

A la fracción poseedora de la mayor actividad hipoglucemiante se le realizó un estudio espectroscópico de infrarrojo mediante la técnica de bromuro en pastilla.

### 3.6. DIAGRAMA DE TRABAJO



222471

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Conejos sanos con hiperglucemia temporal.

En el cuadro 1 y gráfica 1, se presentan los resultados de esta parte de la investigación, los cuales muestran que la glucemia de los conejos en ayunas es de  $77.1 \pm 7.2$  mg/dL. Después de la administración de la glucosa, en el control con agua, la glucemia se incrementa y a las dos horas alcanza su valor máximo de  $226.9 \pm 15.2$  mg/dL, lo que representa un incremento del 192.5% respecto a la glucemia inicial. Posteriormente, la glucemia disminuye en forma gradual, sin regresar a su valor inicial. A las cinco horas, se encuentra por arriba de éste en aproximadamente 39.7%.

La administración de la decocción acuosa de las inflorescencias *Lepechinia caulescens* hace que el incremento de la glucemia sea significativamente menor que en el control con agua ( $p < 0.05$ ) en todos los tiempos estudiados de la curva de tolerancia a la glucosa y también resultó significativamente menor respecto al estudio con tolbutamida durante las primeras dos horas ( $p < 0.05$ ).

El valor máximo de la glucemia alcanzado 2 horas después de la administración de la decocción de las inflorescencias *Lepechinia caulescens* es de  $157.9 \pm 11.8$  mg/dL, lo que representa un incremento del 102% respecto al valor de glucemia inicial y comparado con el porcentaje de incremento máximo del control se observa que es inferior en un 30.5%.

La tolbutamida tiene efecto máximo dos horas después de administrada, donde la glucemia es de  $182.3 \pm 33.5$  mg/dL, o sea 19.8 % inferior al control con agua ( $p < 0.05$ ). Esta diferencia resulta aproximadamente menor en un 10.7% a la producida por la decocción acuosa de las inflorescencias *L. caulescens* ( $p < 0.05$ ).

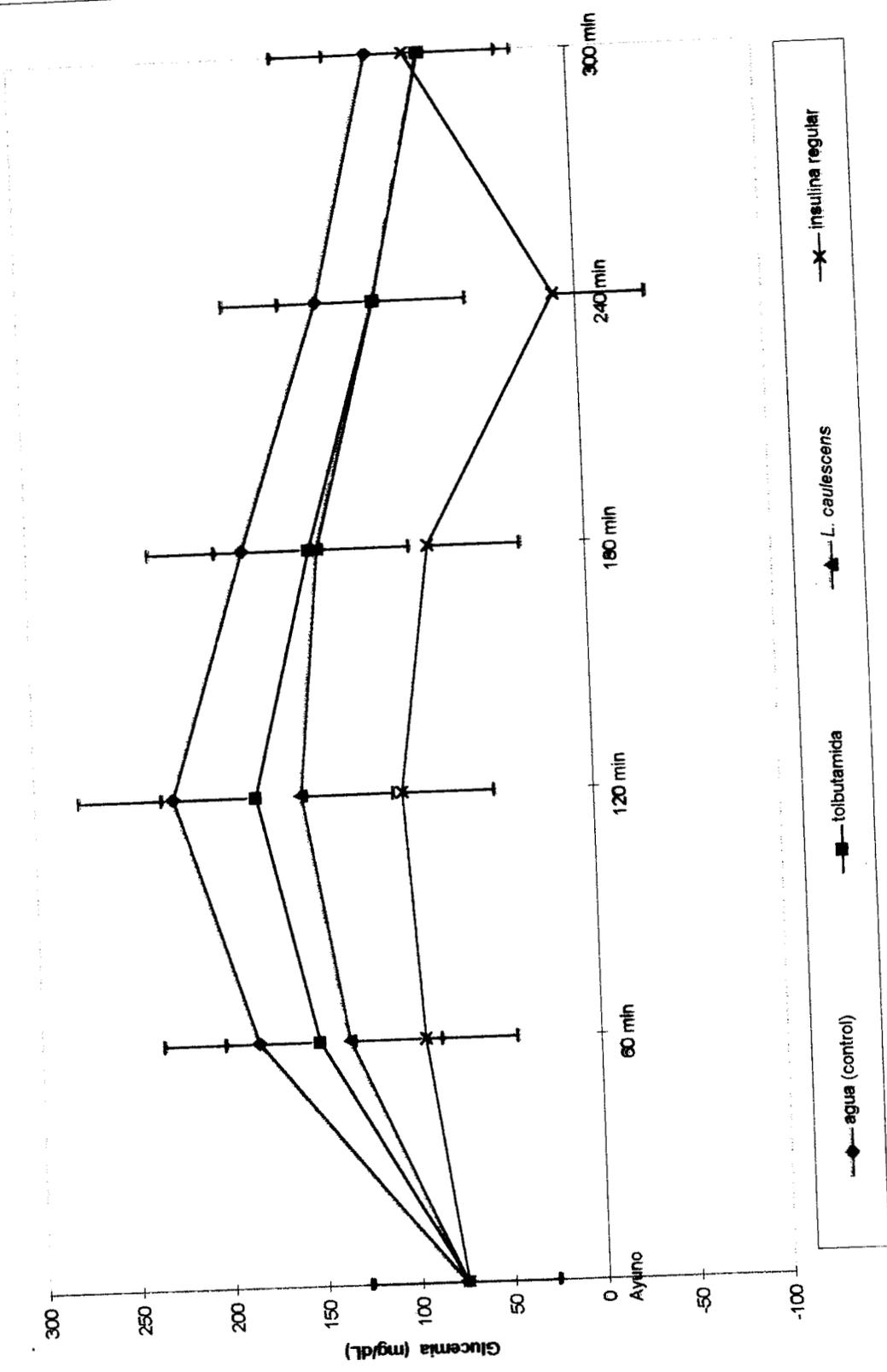
La insulina manifiesta su efecto antihiper glucémico máximo una hora después de administrada cuando la glucemia es de  $95.5 \pm 19.1$  mg/dL, o sea 48.2 % menor al control con agua.

**CUADRO 1.** Curva de tolerancia a la glucosa con administración oral de la decocción acuosa de *L. caulescens* en conejos sanos con hiperglucemia temporal.

ESTUDIO	Glucemia en mg/dL ( $\bar{X} \pm D.E.$ ; n = 18)					
	Ayuno	60 min	120 min	180 min	240 min	300 min
Agua (control) (4 mL/kg)	77.6 $\pm 6.1$	184.76 $\pm 33.4$	226.98 $\pm 35.2$	185.3 $\pm 35.3$	140.4 $\pm 34.4$	108.4 $\pm 31.6$
Tolbutamida (20 mg/kg)	76.4 $\pm 8.8$	152.1* $\pm 33.3$	182.3* $\pm 33.5$	149.2* $\pm 35.2$	109.7** $\pm 36.2$	80.6*** $\pm 32.3$
<i>L.caulescens</i> (102 mg/kg)	76.9 $\pm 7.6$	135.9** $\pm 32.6$	157.9** $\pm 31.8$	144.5* $\pm 36.7$	109.6** $\pm 33.2$	80.1*** $\pm 8.4$
Insulina regular (0.4 U.I./kg)	76.4 $\pm 6.3$	95.5*** $\pm 19.1$	103.6*** $\pm 33.1$	85.5*** $\pm 30.1$	79.3*** $\pm 22.9$	88.31*** $\pm 18.8$

Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control: p < 0.05 \*\*p < 0.01 \*\*\*p < 0.001

Gráfica 1. Efecto hipoglucémico de la decocción acuosa de *L. caulescens* en conejos sanos



### 3.2 Conejos con diabetes moderada.

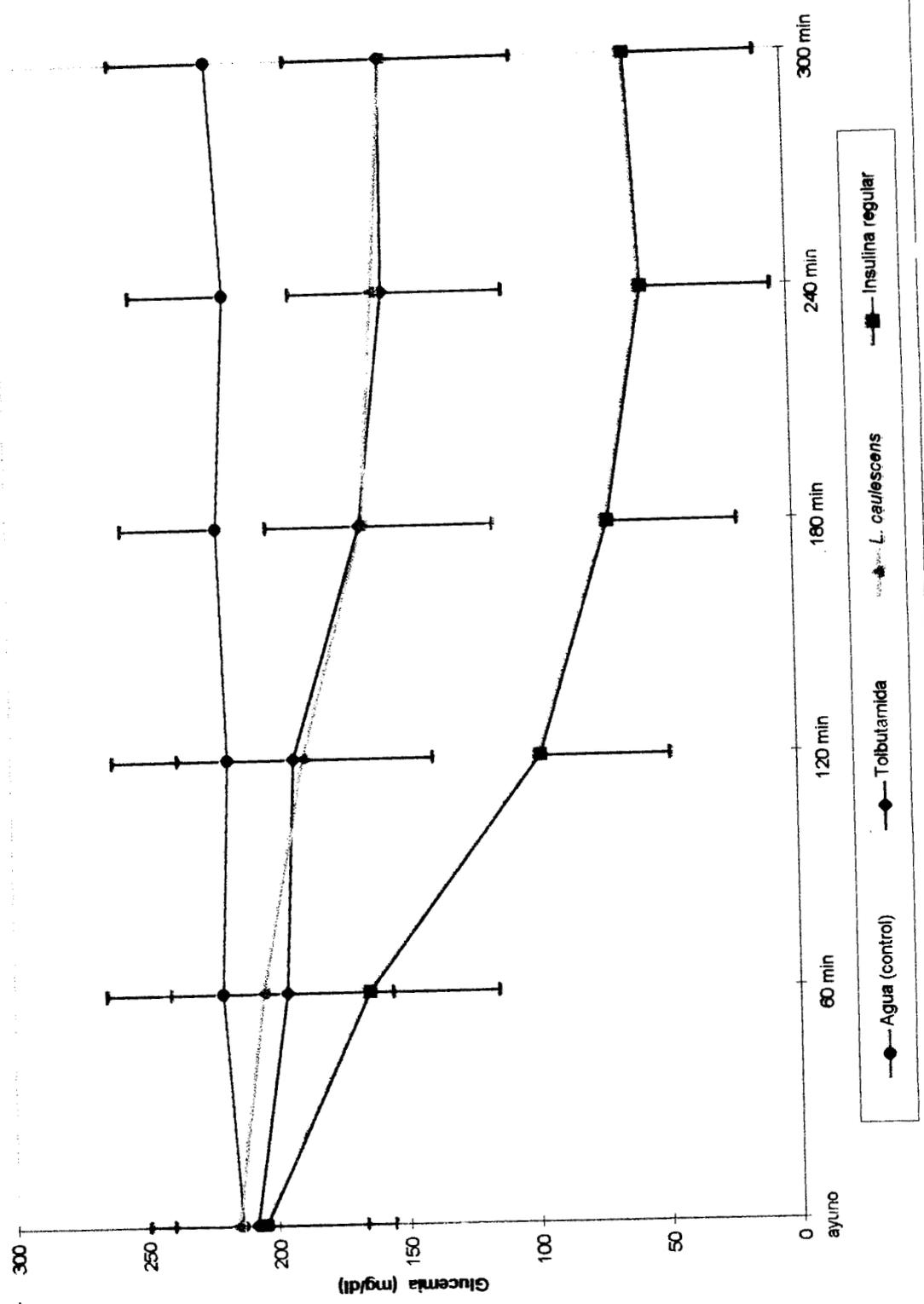
Los conejos diabéticos de glucemia en ayunas entre 150 y 350 mg/dL ( $210 \pm 32$  mg/dL) permanecen sin cambio importante al administrarles agua como control (Cuadro 2, gráfica 2). La administración de la decocción acuosa de las inflorescencias de *Lepechinia caulescens* causa una disminución estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en la glucemia de estos conejos a partir de la segunda hora de administrada, manifestando su acción hipoglucemiante máxima a las 5 horas, cuando la glucemia disminuye a  $153 \pm 33.1$  mg/dL, es decir, en 29.3% con respecto al valor inicial. La tolbutamida tiene efecto estadísticamente significativo también a partir de la segunda hora de administrada. Su acción hipoglucemiante máxima la muestra a las 5 horas, cuando la glucemia es de  $153.8 \pm 35.4$  mg/dL. La insulina provoca una disminución significativa en todos los tiempos estudiados, normalizando incluso la glucemia a partir de los 120 minutos de inyectada, mostrando su actividad máxima al minuto 240, cuando la glucemia desciende hasta  $56.3 \pm 18.1$  mg/dL.

**CUADRO 2.** Variación de la glucemia durante la curva de tolerancia a la glucosa con la administración oral de la decocción acuosa de *L. caulescens* en conejos con diabetes moderada.

ESTUDIO	Glucemia en mg / dL ( $\bar{X} \pm D.E.$ ; n = 18)					
	Ayuno	60 min	120 min	180 min	240 min	300 min
Agua (control) (4 mL/kg)	214.9 $\pm 34.6$	221.3 $\pm 43.6$	218.1 $\pm 43.4$	220.7 $\pm 35.9$	215.9 $\pm 35.2$	220.2 $\pm 36.1$
Tolbutamida (20 mg/kg)	209.5 $\pm 30.7$	196.6 $\pm 44.0$	192.8* $\pm 43.9$	165.6*** $\pm 35.0$	154.9*** $\pm 34.8$	153.8*** $\pm 35.4$
<i>L. caulescens</i> (102 mg/kg)	216.4 $\pm 33.2$	205.3 $\pm 35.6$	188.8** $\pm 38.5$	164.5*** $\pm 35.1$	158.7*** $\pm 33.3$	153.0*** $\pm 33.1$
Insulina regular (0.4 U.I./kg)	205.9 $\pm 28.5$	163.5*** $\pm 36.7$	98.5*** $\pm 38.1$	71.1*** $\pm 30.8$	56.3*** $\pm 18.1$	60.6*** $\pm 24.2$

Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control: \*p < 0.05 \*\*p < 0.01 \*\*\*p < 0.001

**Gráfica 2. Efecto hipoglucémico de la decocción acuosa de *L. caulescens* en conejos con diabetes moderada**



#### 4.3. Conejos con diabetes severa

En conejos con glucemia en ayunas mayor a los 350 mg/dL ( $458 \pm 50.7$  mg/dL), la administración de la decocción acuosa de las inflorescencias de *Lepechinia caulescens*, así como la administración de tolbutamida, no modifican la hiperglucemia existente en ayunas.

Esta se conserva, sin variaciones significativas, durante las cinco horas del estudio y no se diferencia de los resultados obtenidos en el estudio control con agua (Cuadro 3, gráfica 3).

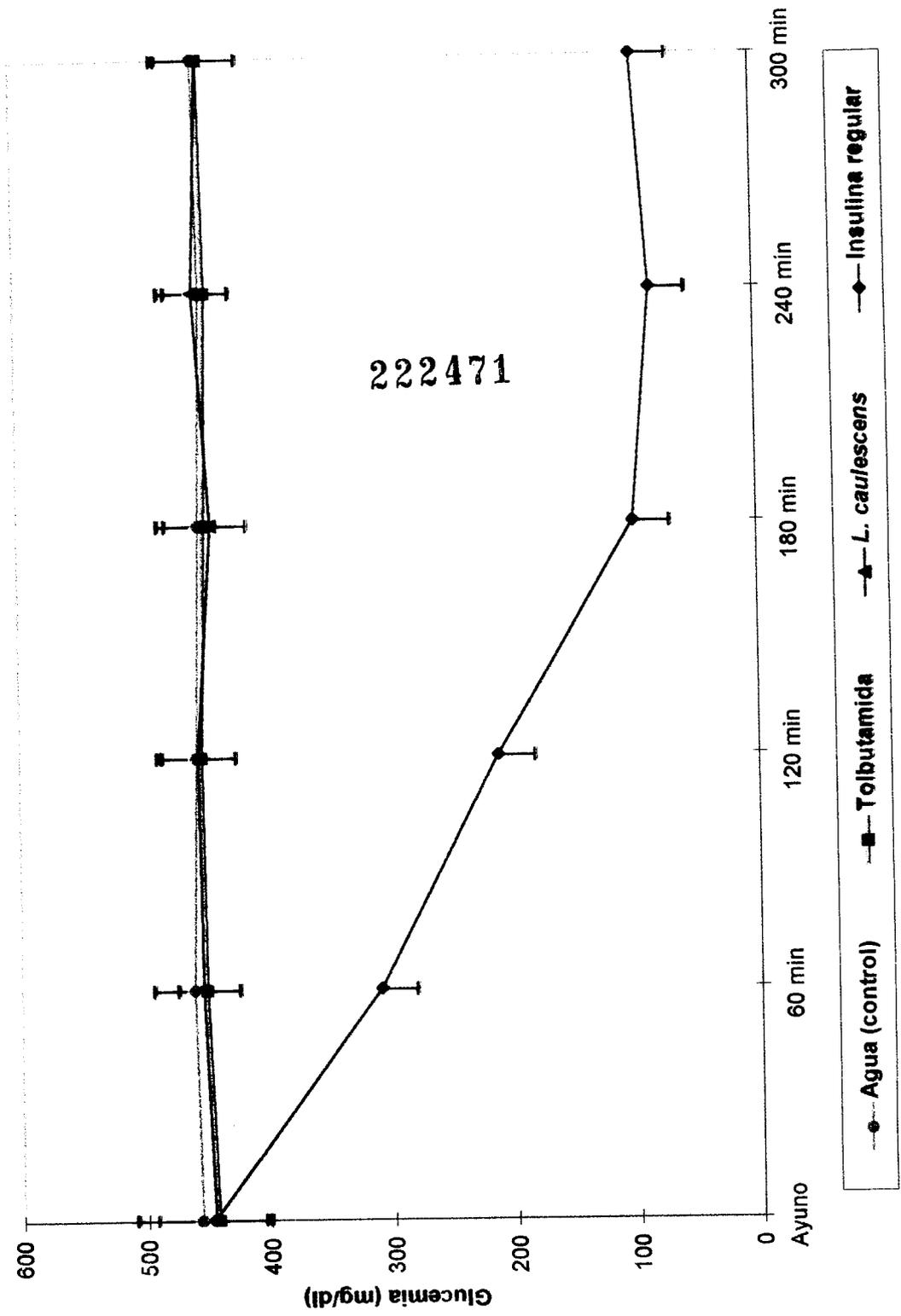
En este grupo, solamente la insulina logra disminuir la glucemia en forma significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los puntos de la curva. Los descensos causados por esta sustancia fueron del 30%, 52%, 75%, 80% y 78% a las 1, 2, 3, 4 y 5 horas, respectivamente, después de administrada.

**CUADRO 3.** Curva de tolerancia a la glucosa con la administración oral de la decocción acuosa de *L. caulescens* en conejos con diabetes severa.

ESTUDIO	Glucemia en mg / dL ( $\bar{X} \pm$ D.E.; n = 18 )						
	Ayuno	60 min	120 min	180 min	240 min	300 min	
Agua (control) (4 mL/kg)	458.5 $\pm$ 50.7	463.0 $\pm$ 31.2	459.4 $\pm$ 30.3	455.7 $\pm$ 31.4	452.0 $\pm$ 32.2	454.8 $\pm$ 31.0	
Tolbutamida (20 mg/kg)	444.2 $\pm$ 48.5	452.1 $\pm$ 22.3	454.4 $\pm$ 31.2	450.4 $\pm$ 30.7	446.8 $\pm$ 31.6	449.9 $\pm$ 32.6	
<i>L. caulescens</i> (102 mg/kg)	447.8 $\pm$ 42.9	455.8 $\pm$ 31.3	458.0 $\pm$ 32.3	445.6 $\pm$ 30.6	457.6 $\pm$ 31.4	450.9 $\pm$ 33.6	
Insulina regular (0.4 U.I./kg)	448.4 $\pm$ 46.9	311.2* $\pm$ 30.0	214.8* $\pm$ 31.5	102.3* $\pm$ 30.9	86.6* $\pm$ 30.3	98.7* $\pm$ 30.7	

Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control: \* p < 0.001

Gráfica 3. Efecto hipoglucémico de la decocción acuosa de *L. caulescens* en conejos con diabetes severa.



#### 4.4. Ratones sanos con glucemia normal

La glucemia en ayunas fue de  $47.8 \pm 6.8$  (Cuadro 4, y gráfica 4). La administración de solución salina no produjo cambios importantes en la glucemia.

La decocción acuosa de las inflorescencias de *Lepechinia caulescens* administradas por vía gástrica a razón de 4 mL/kg de peso corporal, tiene un efecto hipoglucémico ( $p < 0.05$ ), sólo a los 240 minutos de iniciado el estudio, que representa un descenso del 18.4% .

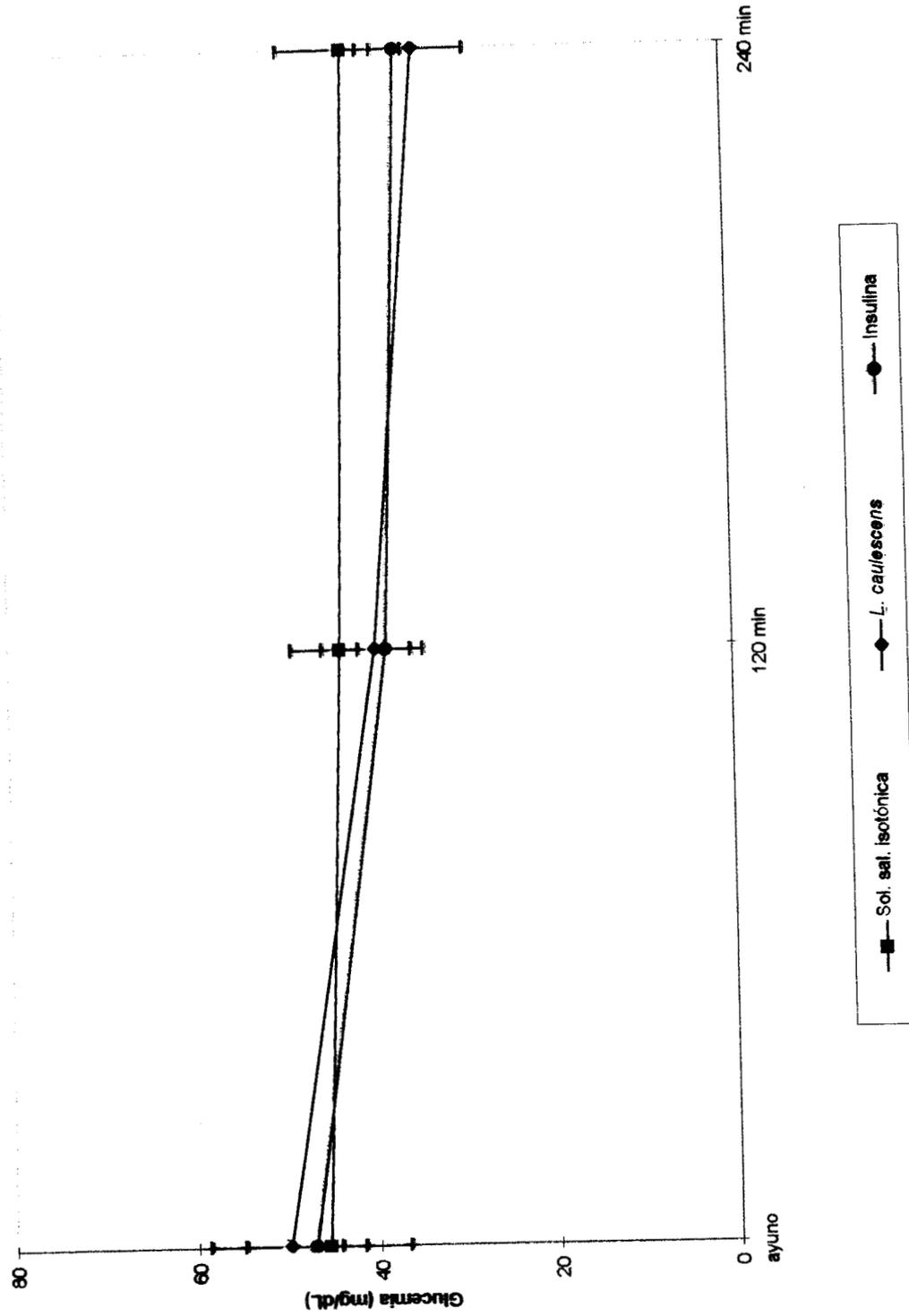
La insulina mostró un efecto hipoglucémico el cual se manifestó de manera significativa ( $p < 0.05$ ) en los puntos estudiados, lo que representa un descenso del 11.8% para el minuto 120 y un 13.7% para el minuto 240 con respecto al control.

**CUADRO 4.** Efecto hipoglucémico de la decocción acuosa de las inflorescencias de *Lepechinia caulescens* sobre los niveles de glucosa de ratones sanos en ayunas.

ESTUDIO	Glucemia mg/dL ( $X \pm D.E.$ ; n = 10)		
	t = 0 min	t = 120 min	t = 240 min
Sol. sal. isotónica	$45.9 \pm 9.1$	$43.8 \pm 5.2$	$42.2 \pm 6.9$
<i>L. caulescens</i>	$50.3 \pm 8.5$	$40.0 \pm 5.6$	$34.4 \pm 5.9^*$
Insulina	$47.4 \pm 3.0$	$38.7 \pm 2.9^*$	$36.4 \pm 2.3^*$

Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control : \*  $p < 0.05$

Gráfica 4. Efecto hipoglucémico de la decocción acuosa de *L. caulescens* en ratones sanos



#### 4.5. Ratones diabéticos

La glucemia en ayunas de los ratones diabéticos fue mayor a los 200 mg/dL y no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos estudiados.(cuadro 5, gráfica 5). Los valores de *L. caulescens* se compararon con el control.

La administración intraperitoneal de 200 mg de liofilizado de la decocción acuosa de *L. caulescens* pese a que causa un descenso de la glucemia, éste no es significativo ( $p > 0.05$ ), en tanto que el descenso de la glucemia causado por la dosis de 400 mg resultó estadísticamente significativo a las 4 horas de iniciado el estudio.

**CUADRO 5.** Efecto hipoglucémico del liofilizado de la decocción acuosa de *L. caulescens* en ratones diabéticos.

ESTUDIO	Glucemia mg/dL ( X ± D.E.; n = 10 )		
	t = 0 min	t = 120 min	t = 240 min
Sol. sal. isotónica	276.8 ± 17.3	232.0 ± 24.3	206.1 ± 32.1
200 mg <i>L. caulescens</i>	281.9 ± 21.4	380.2 ± 21.8	188.2 ± 26.4
400 mg <i>L. caulescens</i>	241.3 ± 23.6	255.8 ± 32.5	82.4 ± 22.2*

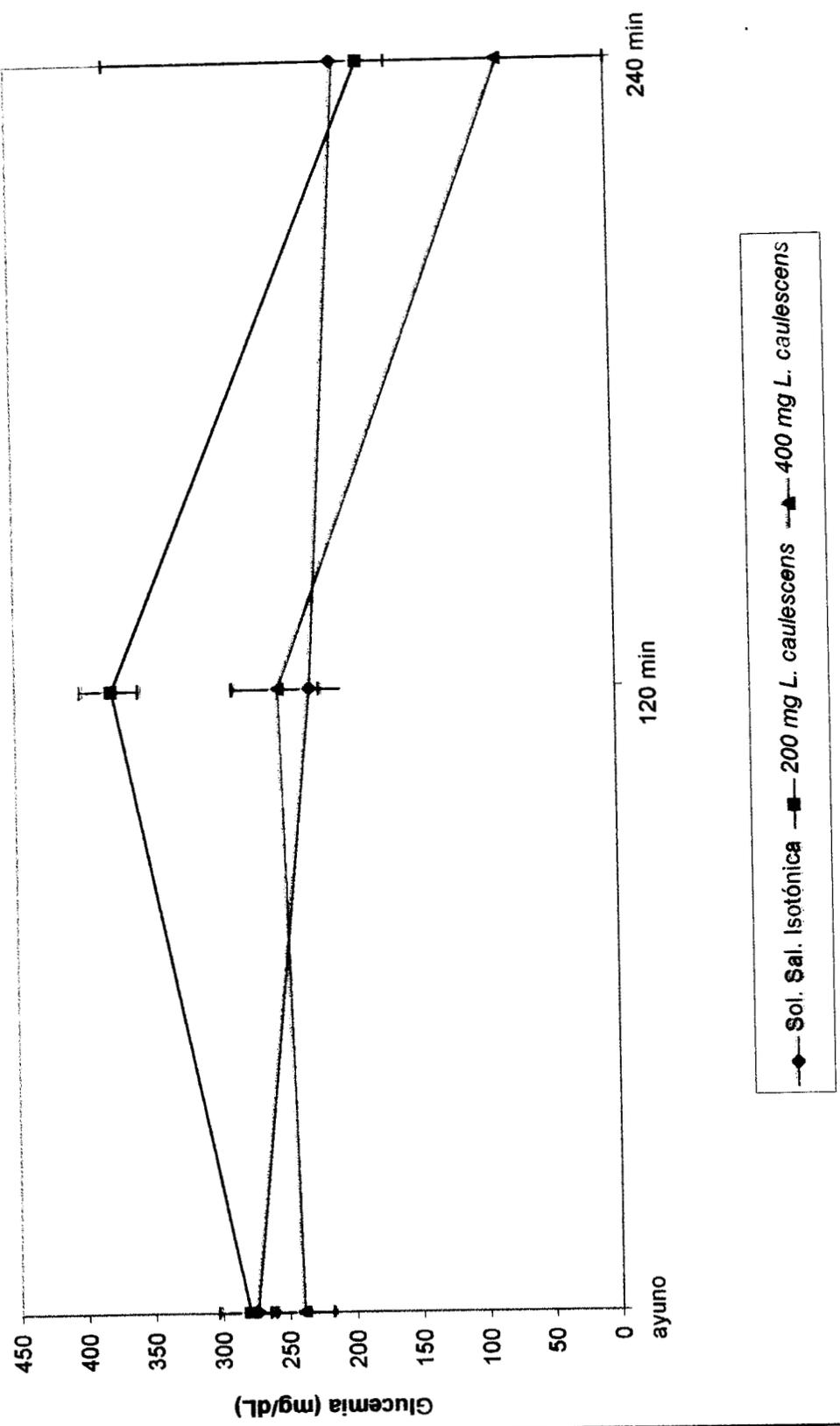
Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control: \*  $p < 0.005$

En el cuadro 6, se muestran los rendimientos de los extractos de *L. caulescens*

**CUADRO 6.** Rendimiento de los extractos de *L. caulescens* a partir de 250 g de planta seca y molida.

EXTRACTO	PESO (g)	RENDIMIENTO (%)
Hexánico	36.91	14.76
Diclorometánico	26.80	10.72
Metanólico	35.12	14.04
Acuoso	18.08	7.23

**Gráfica 5. Efecto hipoglucémico del liofilizado de la decocción acuosa de *L. caulescens* en ratones diabéticos**



#### 4.6. Valoración farmacológica de los extractos

En el cuadro 7 se tienen los resultados correspondientes a la valoración farmacológica de los extractos obtenidos a partir de la maceración de las inflorescencias de *Lepechinia caulescens*.

Los extractos hexánico y diclorometánico se compararon con aceite de maíz como control. Ambos extractos no muestran diferencia estadísticamente significativa en los minutos 120 y 240.

Los extractos metanólico y acuoso fueron comparados con la solución salina isotónica, y se puede observar que sólo el extracto acuoso, en el minuto 240 causa un descenso de la glucemia basal estadísticamente mayor que el observado para el control.

**CUADRO 7.** Disminución de la glucemia en % causada por la administración intraperitoneal de los extractos de las inflorescencias *L caulescens* en ratones sanos a razón de 100 mg/kg de peso corporal.

ESTUDIO n = 20	Glucemia basal mg / dL	% disminución de la glucemia	
		t = 120 min	t = 240 min
Sol. salina isotónica	100 ± 17.1	23.01 ± 13.99	35.67 ± 13.02
Aceite de maíz	89.5 ± 17.6	21.9 ± 5.57	33.94 ± 15.22
Extracto Hexánico	86.0 ± 20.6	23.57 ± 8.55	36.38 ± 10.67
Extracto diclorometánico	96.1 ± 12.7	24.85 ± 11.06	37.83 ± 13.83
Extracto Metanólico	93.6 ± 12.7	26.25 ± 11.70	37.91 ± 14.74
Extracto Acuoso	77.8 ± 16.4	24.21 ± 10.95	51.23 ± 19.32*

Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control: \* p < 0.01

**CUADRO 8.** Rendimiento de las fracciones obtenidas a partir de 250 mg del extracto acuoso de las inflorescencias de *L. caulescens*

FRACCION	PESO (mg)	RENDIMIENTO ( % )
Fracción I	103	41.2
Fracción II	92	36.8
Fracción III	55	22.0

#### 4.7. Valoración farmacológica de las fracciones

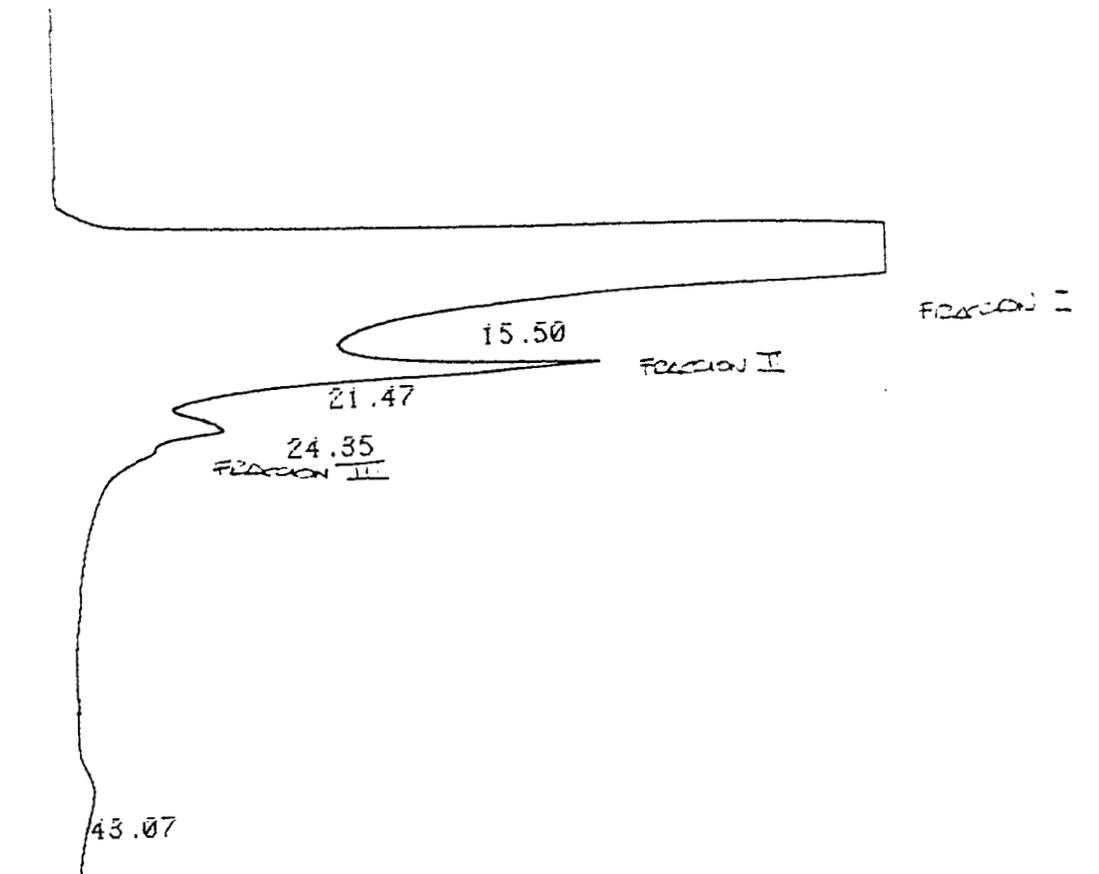
En el cuadro 9 se encuentran los resultados correspondientes a la valoración farmacológica de las fracciones obtenidas a partir del extracto acuoso y la figura 1 muestra el cromatograma correspondiente a las tres fracciones obtenidas a partir de dicho extracto.

Se obtuvieron tres fracciones las cuales fueron comparadas con solución salina isotónica. Se puede observar que todas las fracciones causaron descensos estadísticamente significativos. Sin embargo, la fracción I logró obtener el mayor descenso significativo en el minuto 240 ( $p < 0.005$ ).

**CUADRO 9.** Efecto hipoglucémico causado por la administración intraperitoneal de las fracciones obtenidas a partir del extracto acuoso de las inflorescencias de *L. caulescens* en ratones sanos a razón de 100 mg/kg de peso corporal.

ESTUDIO	Glucemia basal mg / dL	% disminución de la glucemia	
		t = 120 min	t = 240 min
Sol. sal. isotónica	64.2 ± 12.8	0.4 ± 15.1	5.5 ± 23.4
Fracción I	93.5 ± 19.9	30.4 ± 24.5*	62.1 ± 19.5**
Fracción II	71.4 ± 9.2	31.5 ± 15.5*	45.3 ± 16.2*
Fracción III	59.0 ± 15.4	19.5 ± 9.4*	34.2 ± 11.1*

Diferencia estadísticamente significativa con respecto al control : \*  $p < 0.01$  \*\* $p < 0.005$



CHANNEL A INJECT 08-07-97 18:26:33 STORED TO BIN # 1

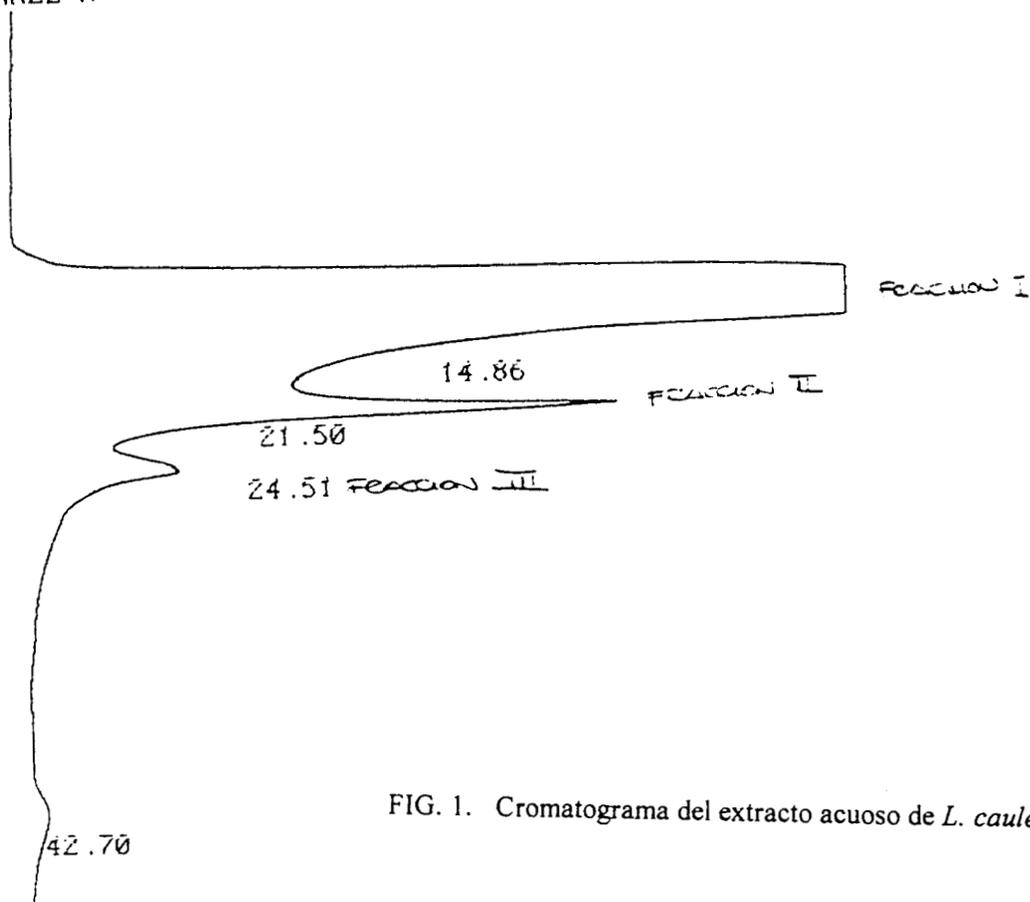
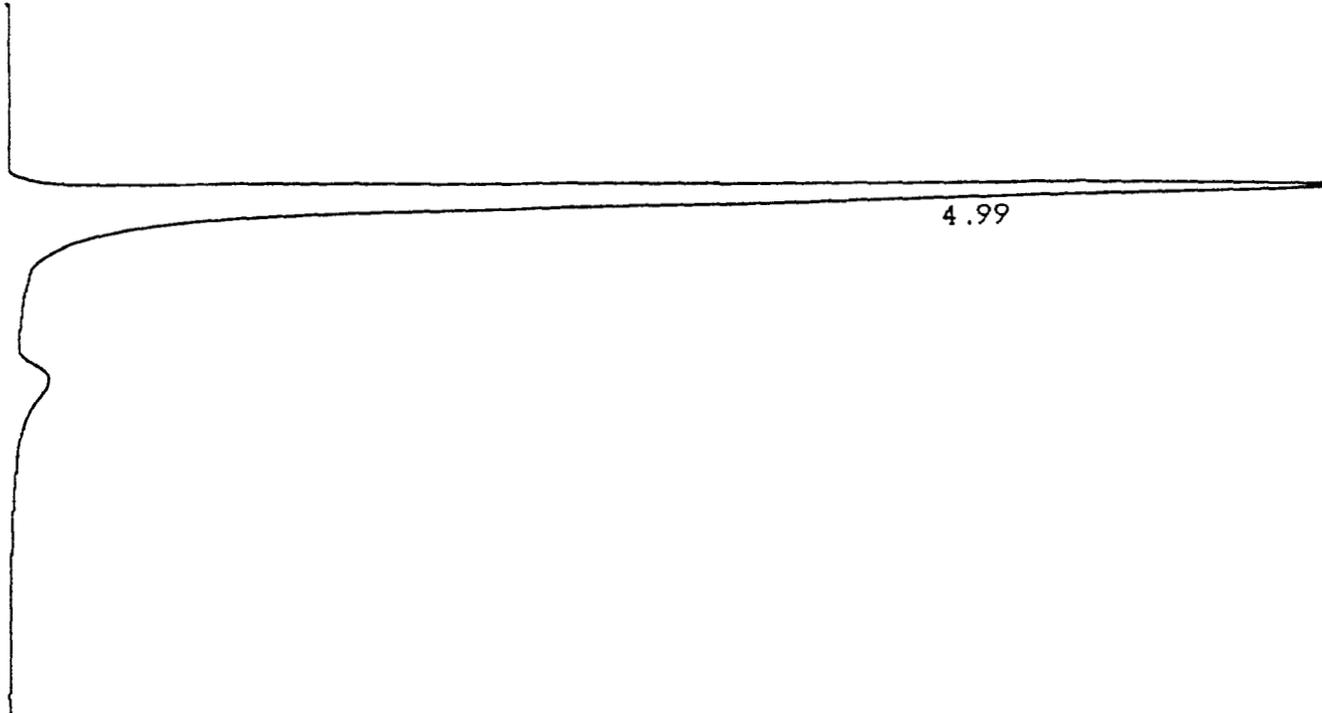


FIG. 1. Cromatograma del extracto acuoso de *L. caulescens*

CHANNEL A INJECT 08-07-97 19:14:04 STORED TO BIN # 1

CHANNEL A INJECT 24-10-97 14:11:48 STORED TO BIN # 1



CHANNEL A INJECT 24-10-97 14:30:35 STORED TO BIN # 1

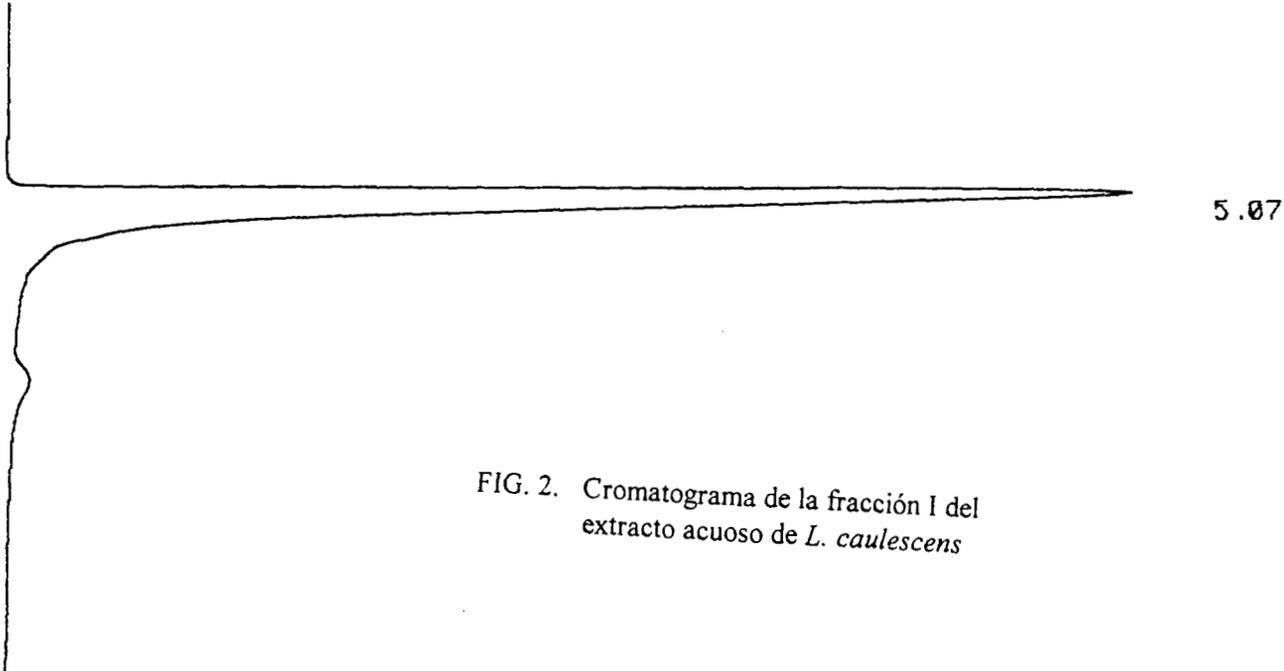
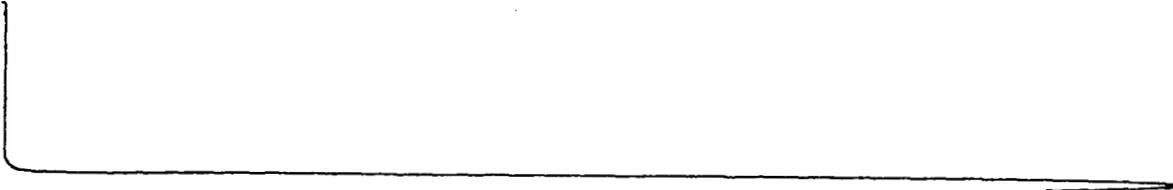


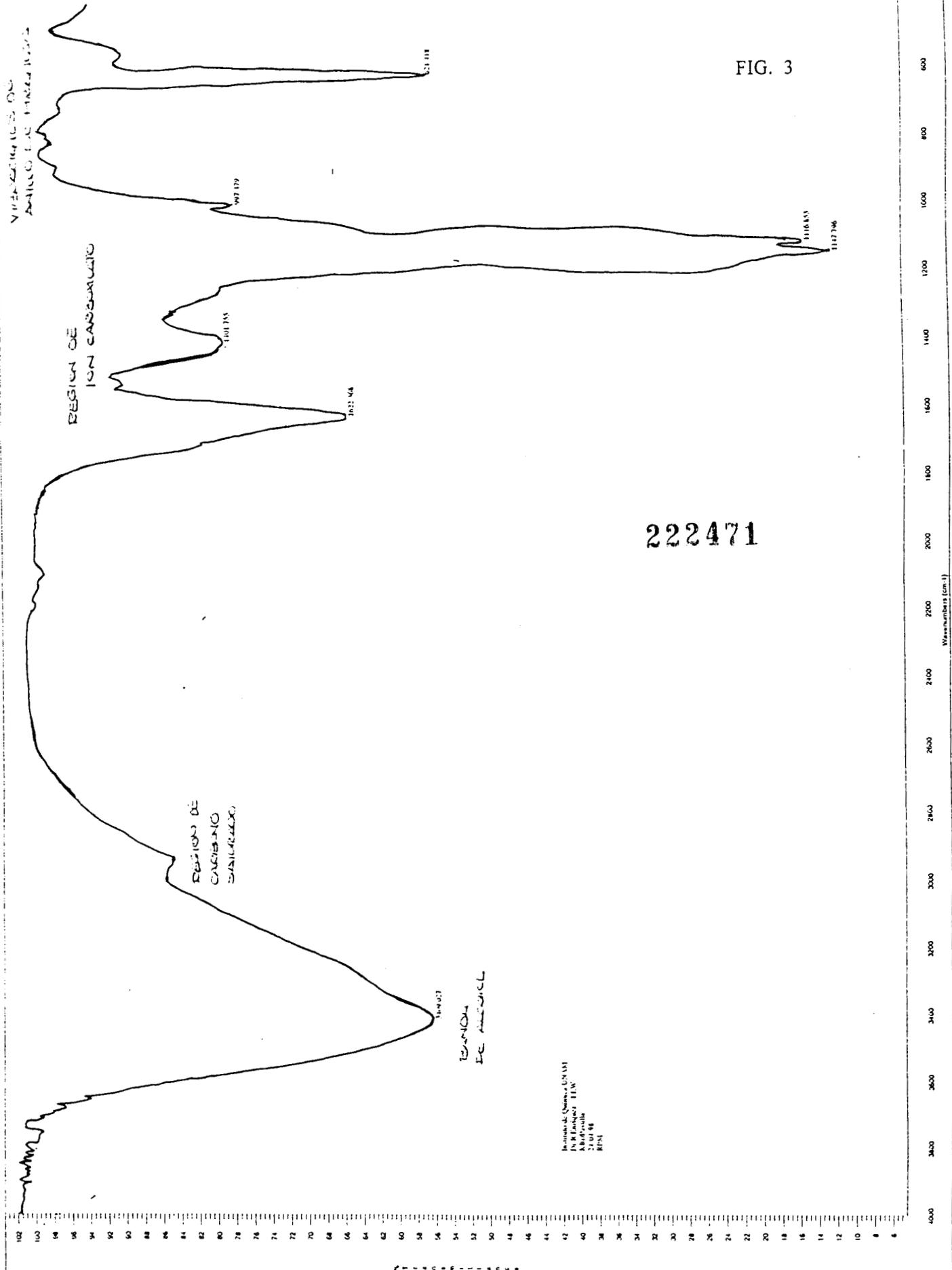
FIG. 2. Cromatograma de la fracción I del extracto acuoso de *L. caulescens*

CHANNEL A INJECT 24-10-97 14:49:44 STORED TO BIN # 1



#### 4.8. Espectro de infrarrojo de la fracción hipoglucemiante

A la fracción con mayor actividad hipoglucemiante se le realizó un estudio de espectroscopía infrarroja, encontrándose en el espectro resultante: una banda ancha en la región de los 3800 - 3200  $\text{cm}^{-1}$ , otra de menor amplitud en la región de los 2900  $\text{cm}^{-1}$  y una serie de bandas pequeñas en la región de 1000 - 600  $\text{cm}^{-1}$  (figura 3).



Instituto Químico UNAM  
 Dr. H. Ramírez HAN  
 México D.F.  
 21 de 06  
 BPS

FIG. 3

4000 3600 3200 2800 2400 2000 1600 1200 800 600

Wavenumbers (cm<sup>-1</sup>)

T  
 R  
 A  
 N  
 S  
 M  
 I  
 T  
 A  
 N  
 C  
 I  
 A

## 5. DISCUSION Y CONCLUSIONES

### 5.1. DISCUSION

En el presente trabajo de investigación, se evaluó a *Lepechinia caulescens*, planta ampliamente usada por la población mexicana en el control de la diabetes mellitus. Esta planta fue seleccionada tomando en cuenta los reportes etnobotánicos referentes a su uso como antidiabética, procedentes del valle de México y de diferentes estados de la República Mexicana.

La acción hipoglucemiante de la preparación tradicional de *L. caulescens* encontrada en la presente investigación está de acuerdo con los resultados obtenidos por otros investigadores, quienes reportan la detección experimental del efecto hipoglucémico de la planta en estudio (Román y col.; 1991, 1992; Alarcón, 1997).

Las personas enfermas de diabetes mellitus en nuestro país, toman un vaso de este preparado vegetal antes de cada ingesta de alimentos, con lo cual buscan obtener un efecto antihiper glucémico durante 4-6 horas. Algo parecido se busca en los estudios realizados de hiper glucemia temporal inducida en conejos sanos mediante la administración de cargas de glucosa. La decocción acuosa de las inflorescencias secas de *L. caulescens* se administra por vía intragástrica a los conejos en estudio, en forma previa a la administración de la primera carga de glucosa, para investigar su efecto antihiper glucémico durante las cinco horas de la curva de tolerancia a la glucosa (CTG).

En esta investigación, se respetó la preparación popular de la planta y la forma de administración. Además la hiper glucemia temporal inducida mediante la administración subcutánea de dos cargas de glucosa (2g/kg al inicio y 60 minutos después) a conejos con páncreas intacto, es adecuada para el estudio de la acción hipoglucemiante de esta planta, pues la glucemia tiende a alcanzar sus valores basales después de 5 horas de iniciado el estudio.

La escasa variabilidad de los valores de la glucosa sanguínea en ayunas obtenidos, indica la uniformidad de los datos al inicio de los experimentos. El hecho de que estos valores sean muy similares a los reportados en humanos, conejos y ratones sometidos a periodos similares de ayuno (14-18 horas) (Akthar y col., 1985; Jiménez y col., 1986; Palanichamy y col., 1988), apoya también la utilidad del modelo empleado en este trabajo para obtener conclusiones válidas en el estudio de sustancias que influyan sobre los niveles de la glucosa sanguínea.

El uso de la tolbutamida, hipoglucemiante oral ampliamente empleado en el control de la diabetes mellitus tipo 2 (ANM, 1997; Gómez-Pérez y Rull, 1997) permitió validar la efectividad del modelo de investigación. Dosis equivalentes a las terapéuticas para el humano redujeron en forma significativa la hiperglucemia de los animales en todos los puntos estudiados de la CTG.

La administración de la decocción acuosa de *Lepechinia caulescens* a los conejos, les produjo reducciones de la hiperglucemia más importantes que los causados por la tolbutamida durante toda la CTG.

Los resultados obtenidos de la investigación de los conejos sanos con hiperglucemia temporal inducida mediante la administración de cargas parenterales de glucosa no se diferencian estadísticamente de los reportados por otros autores (Román y col., 1991; Alarcón, 1992 y 1997), y nos muestran su reproducibilidad. Los resultados positivos obtenidos en ratones muestran la factibilidad del uso de esta especie animal en el estudio de sustancias hipoglucemiantes, necesitando por su peso corporal de cantidades 100 veces menores al de los conejos, lo cual es importante en el estudio de extractos y fracciones de éstos obtenidas en cantidades muy pequeñas a partir de plantas medicinales usadas empíricamente como antidiabéticas.

El uso de animales sanos con hiperglucemia temporal, inducida mediante la administración de sobrecargas de glucosa, permite la investigación de sustancias hipoglucemiantes, descartando de entre los mecanismos de acción farmacológica, la disminución en la absorción intestinal de glucosa (Fрати-Munari y col., 1989). Esto permite comenzar a dilucidar los probables mecanismos de acción hipoglucemiante de la decocción acuosa de *L. caulescens*.

La administración intravenosa de aloxana a conejos por el método de Duffy (Duffy, 1945), permite causar daño selectivo e irreversible, en parte o en su totalidad, de los islotes pancreáticos, con el subsiguiente desarrollo de diabetes mellitus moderada o severa, respectivamente, sin daño de la parte exocrina del páncreas, como sucede en la diabetes experimental inducida quirúrgicamente, resultando un modelo experimental más parecido a la diabetes mellitus padecida por el ser humano (Walter y col., 1969).

La diabetes mellitus moderada de estos conejos, simula a la diabetes mellitus tipo 2 del humano, como lo demuestran los niveles de glucosa sanguínea (150-350 mg/dL) y la disminución de la hiperglucemia causada por la tolbutamida. Este fármaco requiere de la presencia de células beta pancreáticas intactas, capaces de secretar insulina para ejercer su acción hipoglucemiante, aunque ésta resulte insuficiente para normalizar la glucemia (Jackson, 1986).

La diabetes mellitus severa en los conejos usados en el presente trabajo, simula a la diabetes mellitus tipo 1 del humano. Esto se refleja en los niveles elevados de glucemia (superior a 350 mg/dL), pérdida notoria de peso, opacidad del pelo y la ineffectividad de la tolbutamida para disminuir la hiperglucemia.

La decocción acuosa de *L. caulescens*, al igual que la tolbutamida, fue eficaz en la disminución de la glucemia de los conejos con diabetes moderada e ineficaz en los conejos con diabetes severa. Como la tolbutamida, la sustancia o sustancias responsables de la acción hipoglucemiante de *L. caulescens* requieren de la presencia de insulina endógena.

En los animales con diabetes severa no hay células beta pancreáticas intactas capaces de secretar insulina por lo que ni *L. caulescens* ni la tolbutamida presentaron efecto hipoglucémico evidente. En estos animales sólo la insulina tuvo acción hipoglucemiante.

El análisis de los resultados de la investigación de la acción hipoglucemiante de la decocción acuosa de *L. caulescens* en animales sanos con hiperglucemia temporal inducida y en animales diabéticos permite pensar que el uso tradicional de esta planta está fundamentado únicamente en el control de la diabetes mellitus tipo 2, mientras que en la diabetes mellitus tipo 1 es ineficaz, por lo que se recomienda a los enfermos abstenerse de intentar sustituir a la insulina por preparaciones basadas en esta planta para su tratamiento.

Algunos autores reportan haber encontrado sustancias insulinomiméticas en plantas utilizadas empíricamente como antidiabéticas (Collier, col., 1987; Kanna y Jain, 1981). La acción hipoglucemiante de estas sustancias es independiente de la insulina. Sin embargo, hasta ahora no ha sido desarrollado ningún medicamento capaz de sustituir a la insulina en el tratamiento de enfermos de diabetes mellitus tipo 1, lo cual en parte puede deberse a la baja potencia de las sustancias hipoglucemiantes insulinomiméticas de procedencia vegetal.

La preparación de extractos procedentes de *L. caulescens* y de fracciones de éstos con efecto hipoglucémico fortalece la idea de la existencia de al menos una sustancia hipoglucemiante. El extracto acuoso de *L. caulescens* fue el único que conservó la actividad hipoglucemiante. De aquí que la sustancia responsable de esta actividad sea muy polar, aunque puede descartarse que dicha sustancia pueda encontrarse unida a otros componentes que modifiquen sus características de solubilidad. Al fraccionarse al extracto, la actividad hipoglucemiante se conserva en su fracción más polar, lo que permite comenzar a especular sobre la estructura química del compuesto responsable de esta actividad farmacológica.

Al estudiar las plantas medicinales, la correlación de actividad biológica con la presencia de estructuras químicas constituye el problema central y de este conocimiento, depende la comprensión de los efectos observados experimentalmente.

En la investigación farmacológica de las plantas usadas empíricamente como antidiabéticas se deben tomar en cuenta las interacciones farmacológicas, así por ejemplo, ya ha sido reportada la presencia de sustancias con efectos antagónicos en la glucemia de animales de laboratorio, con anterioridad para otras plantas (Peters, 1957). Por otro lado, es necesario subrayar que las probables acciones sinérgicas de los diferentes compuestos que constituyen un extracto crudo no se deben pasar por alto en la investigación experimental y clínica de las plantas usadas empíricamente por la población en el control de la diabetes mellitus.

En la presente investigación se realizó el análisis por cromatografía de alta resolución (HPLC) con buenos resultados, obteniéndose únicamente tres fracciones, de las cuales la fracción 1 conservó la actividad hipoglucemiante detectada en el extracto acuoso. Dicha fracción podría corresponder a una sólo sustancia como lo indica el cromatograma correspondiente (figura 2). Para establecer en forma definitiva lo anterior, la investigación

debe continuarse con técnicas más específicas que proporcionen mayor información y permitan establecer la estructura química de la sustancia hipoglucemiante, por ejemplo, la espectrometría de masas, espectrometría infrarroja y resonancia magnética nuclear (Goldstein, 1989; Kalinovsky, 1988; Johnson, 1990).

Las bandas del espectro de infrarrojo de la fracción I del extracto acuoso de las inflorescencias de *L. caulescens*, se pueden relacionar a una serie de grupos funcionales. La banda ancha en la región de los 3800 - 3200  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a una vibración de "estiramiento" del enlace O - H. Esto último se confirma en la región de la "huella digital" del espectro, en la cual se hayan bandas de vibración de enlace C - O complementario que apoyan la presencia del alcohol.

En la región de los 3000 - 2800  $\text{cm}^{-1}$ , se presenta la región del carbono saturado. Más adelante se encuentran tres bandas alrededor de los 1600 - 1400  $\text{cm}^{-1}$ , y las bandas presentes en la región de 1000 - 600  $\text{cm}^{-1}$  probablemente pertenezcan a las vibraciones C - O de los polisacáridos. La presencia de grupos carbonilo podrá ser establecida con reacciones químicas y estudios de resonancia magnética nuclear.

Dado que no existen otras evidencias de grupos funcionales en el espectro analizado, puede presumirse que se trata de una sustancia del tipo de los polisacáridos. Proximamente se realizarán estudios analíticos complementarios, para la identificación definitiva de la estructura responsable de la actividad hipoglucemiante.

Aunque es prematuro hablar acerca del mecanismo de acción hipoglucemiante de *L. caulescens*, cabe señalar que referente a otras plantas antidiabéticas algunos investigadores (Ivorra, col., 1989; Atta-ur-Rahman y col., 1989) afirman que pueden ejercer su acción hipoglucemiante través de los siguientes mecanismos:

- actuando sobre las células beta del páncreas y estimulando la secreción de insulina,
- inhibiendo las células alfa en cuanto a la secreción de glucagón,
- inhibiendo la acción de algunos otros factores u hormonas hiperglucemiantes,
- incrementando el efecto de la insulina a nivel de receptores y favoreciendo el transporte de la glucosa a través de la membrana celular,
- modificando directamente el metabolismo de la glucosa,
- actuando como sustituto de la acción insulínica (actividad insulinomimética).

El uso empírico de *L. caulescens* en el control de la diabetes mellitus y la validación experimental de su actividad hipoglucemiante presente en la preparación tradicional, actividad que se conserva en el extracto acuoso y en la fracción más polar de éste obtenida por HPLC, hacen imprescindible la continuación de la investigación para la obtención de sustancia hipoglucemiante pura, la determinación de su estructura y el desarrollo a partir de ella, con los estudios fármaco-toxicológicos necesarios, de un nuevo medicamento hipoglucemiante que pueda ser usado ampliamente en el control de la diabetes mellitus tipo 2.

## 5.2 CONCLUSIONES

1. La decocción acuosa de *Lepechinia caulescens*, posee actividad hipoglucemiante en animales sanos y en animales con diabetes moderada, en tanto que carece de dicha actividad en animales con diabetes severa.
2. La acción hipoglucemiante de la decocción acuosa de *Lepechinia caulescens* es parecida a la de la tolbutamida.
3. Los componentes responsables del efecto hipoglucémico se encuentran en el extracto acuoso.
4. La fracción más polar (fracción 1, por HPLC) del extracto acuoso conserva la actividad hipoglucemiante.
5. La fracción citada debe ser sometida a estudios espectroscópicos que conduzcan a la dilucidación estructural del agente causante del efecto hipoglucémico.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- 1) Abourizk N y Dunn. (1990). Types of diabetes according to National Diabetes Data Group classification. *Diabetes Care* 13 : 1120-1123.
- 2) ADA (American Diabetes Association) (1997). Clinical practic recomendations. Screening for diabetes. *Diabetes Care* 20 (Suppl. 1), 22 - 24.
- 3) Akhtar MS y Ali MR. (1985). Study of hypoglycaemic activity of *Cumminum nigrum* seeds in normal and alloxan diabetic rabbits. *Planta Medica* 51 : 81-85.
- 4) Akhtar MS, Khan QM y Khaliq T. (1984). Effects of *Euphorbia prostata* and *Fumaria parviflora* in normoglycaemic and alloxan-treated hiperglycaemic rabbits. *Planta Medica*. 50 : 138 - 142.
- 5) Alarcón AF. (1990). Investigación del efecto hipoglucemiante de plantas usadas por la población mexicana en el control de la diabetes mellitus. Tesis Maestría. UAM-Iztapalapa. México. p. 124.
- 6) Alarcón AF. (1997). Investigación experimental de la acción hipoglucemiante de plantas usadas en el control de la diabetes mellitus. Tesis Doctorado. UAM-Iztapalapa. México. p.181.
- 7) Alarcón AF, Román RR y Flores SJL.(1993). Plantas medicinales usadas en el control de la diabetes mellitus. *Ciencia* 44, 363-381.
- 8) Alberti KB. (1997). The costs of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Medicine* 14 : 7 - 9.
- 9) Ali-Ajabnoor M y Karim TA. (1988). Effect of *Trigonella foenum-graceum* on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic mice. *J. of Ethnopharmacology*. 22 : 45 - 49.
- 10) ANM (Academia Nacional de Medicina, México). (1997). Hipoglucemiantes de acción intestinal. Revisones Bibliográficas para el Médico General. 2 (4) : 37 - 39.
- 11) Atta-ur-Raman y Zaman K. (1989). Medicinal Plants with hipoglycemic activity. *J. of Ethnopharmacology* 26 : 1 - 55.
- 12) Ayala A. (1990). Complicaciones agudas de la diabetes mellitus: fisiopatología y tratamiento. *Gaceta Médica de México* 126: 385-391.

- 13) Bailey J y Day C. (1989). Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* 12: 553-554.
- 14) Baliga BS y Fonseca VA. (1997). Recent advances in the treatment of type II diabetes mellitus. *American Farm Physician* 55 : 817 - 824.
- 15) Banting FG, Best CH, Collip JP, Campbell WR y Fletcher A. (1922). Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. *Can Med Ass J* 12: 141-146.
- 16) Blanco de la Mora E. (1995). Complicaciones de la diabetes mellitus. *Mundo Médico*, Noviembre (Número especial) : 73-82.
- 17) Bannerman H. (1980). La medicina tradicional en el programa de la OMS. *Medicina Tradicional* (México) 3 : 53.
- 18) Barrera A. (1982). La Etnobotánica. Simposio de Etnobotánica. México. D.F. p. 6-11.
- 19) Brennan A. (1996). Diabetes Mellitus : Biomedical health education/promotion approach. *British J Nurs* 5 (17) : 1060 - 1064.
- 20) Caádel VJ. (1973). Libro de diabetes. Ed. Rocas. Barcelona, España. pp. 40-45.
- 21) Caballero J. (1987). Etnobotánica y desarrollo: La búsqueda de nuevos recursos vegetales. En memorias del 4to. Congreso Latinoamericano de Botánica. Medellín. Colombia. pp. 79-95.
- 22) Castro Ramírez A. (1988). Estudio comparativo del conocimiento sobre plantas medicinales utilizadas por dos grupos étnicos del municipio de Pahuatlán, Pue. Tesis Licenciatura. ENEP-Iztacala. México.
- 23) Capasso F. (1985). Medicinal Plants : an approach to the study of naturally occurring drugs. *J of Ethnopharmacology* 13 : 11-114.
- 24) Capasso F, Balestrieri B y Mascolo N. (1980). Actualidad de las plantas medicinales. *Medicina Tradicional* (México) 3 (10) 53-61.
- 25) Clarke WL, Gonder-Frederick L y Cox DJ. (1996). The frequency of severe hypoglycaemia in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Horm-Research* 45 (Suppl. 1) : 48 - 52.
- 26) Collier E, Watkinson A, Cleland Ch y Roth J. (1987). Partial purification and characterization of an insulin-like material from spinach and *Lemna gibba* G3. *J of Biol Chem* 262 (13) pp. 6238-6247.

- 27) Committee Report (1997). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 20 : 1183 - 1197.
- 28) Crabbe MF. (1987). "The complications of diabetes". Diabetic Complications. Scientific and Clinical Aspects. M Jamez y col. Ed. (Churchill, Livingstone) pp. 1-23
- 29) Chance RE y Frank BH. (1993). Research, Development, Production and safety of biosynthetic human insulin. *Diabetes Care* 16 (Suppl. 3) : 133 - 142.
- 30) Chenault AM. (1979). The terapia of diabetes. *Am Scientist* 67 (Jul-Aug) 422-431.
- 31) Chino S. y Jacquez P. (1986). Contribución al conocimiento de la flora medicinal de Quimixtlán, Pue. Tesis Licenciatura. ENEP-Iztacala. México.
- 32) Del Campo MR. (1976). Consideraciones acerca de las plantas medicinales mexicanas y su posible proyección mundial. En Estado Actual del Conocimiento en Plantas Medicinales Mexicanas (IMEPLAM). pp. 97 - 101.
- 33) Derot, M y Tchobroutsky, G. (1970). The importance of diet in the treatment of diabetes mellitus. En proceedings of the seventh congress of the international diabetes. Editado por Rodríguez, RR., Buenos Aires, Argentina. pp. 99-112.
- 34) Duffy, E.(1945). Alloxan diabetes in the rabbits. *J Pathol Bacteriol* 57. 199.
- 35) Faber, OK, Beck-Nielsen H, Binder L. (1990). Acute actions of sulphonylurea drugs during long term treatment of NIDDM. *Diabetes Care* 13 : 26 - 31.
- 36) Farnsworth N, Akerele O, Bingel A. (1989). Las plantas medicinales en la terapéutica. *Bol of Sanit Panam* 107, (4) 314-329.
- 37) Frati-Munari A, De Leon C, Ariza AR, Bañales-Ham M, López-Ledezma R y Xavier Lozoya. (1989). Influence of a dehydrated extract of the nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) on glycemia. *Archivos de Investigación Médica* 20, 211-216.
- 38) Gait MJ. (1979). Synthetic genes for human insulin. *Nature* 277 : 429.
- 39) García-García E. (1997). Biguanidas. En tratado de diabetología de Gomez-Perez FJ y Rull-Rodrigo JA. Instituto Nacional de la Nutrición (México) pp. 486 - 496.
- 40) Gerich JE. (1996). Pathogenesis and treatment of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus (NIDDM). *Horm Metabolism Research* 28: 404-412.

222471

- 41) Glombik H. (1986). Oral antidiabetics. *Prog Drug Res* 30 : 281- 343.
- 42) Goldstein A, Lewis A y Kalman S. (1989). *Farmacología*. Ed. Limusa. 987 p.
- 43) Gómez-Pérez FJ y Rull JA. (1997). Sulfonilureas. En tratado de Diabetología de Gomez-Perez FJ y Rull-Rodrigo JA. Instituto Nacional de la Nutrición (México). pp. 471 - 482.
- 44) Gómez-Vargas E. (1997). Diabetes asociada con otras condiciones y síndromes. En Tratado de Diabetología de Gómez-Pérez FJ y Rull-Rodrigo JA. Instituto Nacional de la Nutrición (México). pp. 333-349.
- 45) Gullias-Herrero A y Contreras-Rodríguez JC. (1997). Transplante de páncreas. En tratado de Diabetología de Gómez-Pérez FJ y Rull-Rodrigo JA. Instituto Nacional de Nutrición (México). pp. 561 - 571.
- 46) Head J y Fuller JH. (1990). International variations in mortality among diabetics patients: The WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetics. *Diabetologia* 33 : 477 - 481.
- 47) Hernández Salgado J. (1987). Estudio fitoquímico de dos plantas medicinales mexicanas *Cunila lythrifolia* y *Lepchinia caulescens*. Tesis Licenciatura. UNAM. México.
- 48) Husni AAT, Keri A y Al-Khazraji N. (1983). Some pharmacological, toxicological and phytochemical investigations on *Centaurea phyllocephala*. *J of Ethnopharmacology* 9 : 299 - 314.
- 49) Inouye K. (1979). Enzyme-assisted semisynthesis of human insulin. *Diabetología* 16(3) 141-150.
- 50) Ivorra M, Payá H y Villar A. (1989). A review of natural products and plants as potential andidiabetic drugs. *J of Ethnopharmacology* 27 : 243 - 275.
- 51) Iwasaki Y, Kondo K, Muraset T. (1996). Osmorregulation of plasma vasopressin in diabetes mellitus with sustained hyperglycemia. *J of Neuroendocrinology* 8: 755-760.
- 52) Jackson EW. (1986). *Guía profesional de medicamentos*. Ed. El Manual Moderno.
- 53) Jave O. (1985). *Memorias del coloquio sobre medicina tradicional*. Bogotá, Colombia.
- 54) Jiménez J, Risco S, Ruiz T y Zarzuelo A. (1986). Hypoglycaemic activity of *Salvia lavandulifolia*. *Planta Medica* 52 : 260 - 262.

- 55) Jonasson O. (1979). Transplantation of the pancreas. *Transplant Proc* 11 (1) 325-330.
- 56) Jonhson F. (1990). Basic liquid chromatography. Varian USA. 354 p.
- 57) Judzewitsch R, Pfeifer A, Best D, Beard C. (1982). Chronic chlorpropamide therapy of non insulin-dependent augments basal and stimulated insulin secretion by increasing islet sensitivity to glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 55 : 321-328.
- 58) Kamani HT, Jeevathayaparan S, Preethika A y Karanunanayake E. Effect of *Momordica charantia* an key hepatic enzymes. *J of Ethnopharmacology* 44 : 93 - 97.
- 59) Kanna P, Jain SC. (1981). Hypoglycemic activity of polipeptide-P from a plant source. *J Nat Prd* 44 (6) pp. 648-655.
- 60) Karanunanayake EH, Jeevathayaparan S, Tenekoon KH. (1990). Effect of *Momordica charantia* fruit juice on streptozotocin-induced diabetes in rats. *J of Ethnopharmacology* 30 : 199 - 204.
- 61) Katzung GB. (1996). *Farmacología Básica y Clínica*. VI. Ed. El Manual Moderno. pp. 773 - 794.
- 62) Kennedy L. (1992). Glycation of hemoglobin and serum proteins. In : *International Textbook of diabetes mellitus*. Edited by Alberti M, Defronzo R, Keen H and Zimmet P. John Wiley & Sons. England. pp. 985-1007.
- 63) Lamela M, Cadavid L, Calleja M. (1986). Effects of *Lythrum salicaria* extract on hyperglycemic rats and mice. *J of Ethnopharmacology* 15 : 153 - 160.
- 64) Larsen JJ, Dera F, Kjaer M y Galbo H. (1997). The effect of moderate exercise on postprandial glucose homeostasis in NIDDM patients. *Diabetología*, 40 : 447 - 453.
- 65) Levin y Munksgaard. (1937). *The papyrus Ebers, the greatest egyptian medical document*. Copenhagen.
- 66) Loubatieres A. (1957). The hipoglucemic sulfonamides: history and development of the problem from 1942 to 1955. *Ann N Y Acad Sci* 71 : 4-11
- 67) Lozoya M. (1980). Antecedentes historicos de la diabetes mellitus. *Medicina Tradicional* 3 (10) : 5-8.
- 68) Lozoya X. (1993). *Función de las plantas medicinales en la medicina del siglo XXI, en la investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana*. Secretaría de Salud. México.

- 69) Marques de Cantu MJ. (1990). Probabilidad y Estadística para ciencias Químico-Biológicas. Mc Graw Hill. p.285.
- 70) Martínez Ortiz Y. (1980). Plantas popularmente usadas para el tratamiento de la diabetes. Tesis Licenciatura. UNAM. México.
- 71) Medow MA. (1997). Use of glycosylated hemoglobin levels for diagnosis diabetes mellitus (letter). *J of American Medicine Association* 277; 211.
- 72) Mehring JV y Minkowski O. (1890). Diabetes mellitus nach pankreas extirpation. *Arch. F Exp Path u Pharm* 26. 371-388.
- 73) Melnick DE. (1979). Future management of diabetes mellitus. *Postgraduate Medicine* 66 (5) 101 - 113.
- 74) Meza-Mendoza SC, Fanghanel-Salmón A y Gutierrez-Gutierrez R. (1997). Transplante de islotes pancreáticos. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 5 (2) 27 - 32.
- 75) Molitch M. (1989). Diabetes mellitus. Control and Complications. *Postgraduate Medicine* 85: 182-194.
- 76) Morales HJM, Díaz P. (1994). La farmacia en Mesoamérica de la etapa nómada a las culturas preclásicas. *Revista de Ciencias Farmacéuticas* 24, 21-24.
- 77) Morton JF. (1990). Atlas of medicinal plants and their uses in medicine. Ed. Wiley & Sons. Inc. pp. 88
- 78) Nathan L. (1989). Test of glycemia in diabetes mellitus. Their use in establishing a diagnosis and in treatment. *Annals of Internal Medicine* 110 : 125 - 137.
- 79) Nelson R. (1988). Oral glucose tolerance test: indications and limitations. *Clinical Proceedings* 63: 263-269.
- 80) Palanichamy S, Nagarajan S y Devasagayam M. (1988). Effect of *Cassia alata* leaf extract on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 22 : 81 - 90.
- 81) Peters G. (1957). Überschiten Insulin: Ersatzmittel Pflanzlichen Ursprungs. *Dtsch Med Wochenschr* 82 pp. 320-322.
- 82) Pickup, JC y Keen H. (1980). Continuous subcutaneous insulin infusion: a developing tool in diabetic research. *Diabetologia* 18 (1) 1-4.

- 83) Quibrera-Infante R. (1997). Epidemiología de la diabetes. Morbilidad y Mortalidad. Frecuencia en el mundo, frecuencia en México. En Tratado de Diabetología de Gómez-Pérez FJ y Rull-Rodrigo JA. Instituto Nacional de la Nutrición (México). pp. 135-171.
- 84) Reemtsa K, Weber C, Di-Sunger F y col. (1979). Organ culture studies for pancreatic islet transplantation. *Transplant Proc* 11 (1) 1002-1010.
- 85) Rodríguez-Saldaña J, Sosa Espinosa P, García Martínez A. (1994). Epidemiología de la diabetes mellitus en México. Pasado, presente y futuro. Revista de la facultad de Medicina. UNAM. 37 : 15 - 28.
- 86) Román Ramos R. (1984). Diabetes mellitus : Lo que todos necesitamos saber. Amistad, Ciencia y Cultura. 1 : 123 - 143.
- 87) Román RR, Alarcón AFJ, Flores SJL y Lara LA.(1992). Hypoglycemic effects of plants used in Mexico as antididiabetics. *Archives of Medical Research* (1) 59-64.
- 88) Román RR, Flores SJL, Partida HG, Lara LA y Alarcón AF. (1991). Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Archives of Medical Research* 22, 87-93.
- 89) Roth M. (1983). "Glycated Hemoglobin Not Glycosilated o Glucosylated", *Clinical Chemistry* 29 : 1991.
- 90) Rubin RR, Peyrot M y Saudek CD. (1989). Effect of diabetes education on self-care, metabolic control and emotional well being. *Diabetes Care* 10 : 673 - 679.
- 91) Rull-Rodrigo JA. (1997). Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. En Tratado de Diabetología de Gómez-Pérez FJ y Rull-Rodrigo JA. Instituto Nacional de la Nutrición (México). pp. 173-190.
- 92) Rzedowski J, Rzedowski GC. (1987). Flora fanerogámica del valle de México. Esc. Nal. Ciencias Biológicas IPN. Instituto de Ecología. México. vol II, p. 296.
- 93) Sánchez Aparicio E. (1988). Estudio fitoquímico de *Lepechinia caulescens* (Labiatae). Tesis Licenciatura. UNAM. México.
- 94) Saudek CD, Duckworth WC, Grobbie Hurder A y col. (1996). Implantable insulin pomp vs. multiple dose insulin for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J American of Medicine Asociation* 276 : 1322.

- 95) Singer D, Coley Ch, Samet J y Nathan D. (1989). Test of glucemia in diabetes mellitus. Their use in establishing a diagnosis and in treatment. *Annals of internal Medicine* 110: 125-137.
- 96) Stocker W. (1966). Aportación de la Historia de la Diabetes Mellitus. Edit. Therapiewoche, Buenos Aires, Argentina. pp. 102 - 163.
- 97) Stout RW. (1979). Diabetes and atherosclerosis. The role of insulin. *Diabetologia* 16 (3) 141-150.
- 98) Sutherland DE. (1981). Pancreas and islet transplantation. Experimental studies. *Diabetologia* 20 : 161-181.
- 99) Taylor R and Agius L. (1988). The biochemistry of diabetes. *Biochemistry J* 250: 625-640.
- 100) Tchobroutsky G. (1991). Blood glucose levels in diabetic and non diabetic subjects. *Diabetologia* 34: 67-73.
- 101) Trujillo H, Román-Ramos R, Alarcón Aguilar FJ, Carrasco-Sosa S y Contreras-Weber C. (1996). Glucemia máxima en la prueba de tolerancia a la glucosa. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica* 17: 13-20.
- 102) Vigneri R, Pezzino V y Wong Y. (1982). Comparison of the in vitro effect of biguanides and sulfonilureas on insulin binding to its receptor in targets cells. *J Cell Endocrinol Metab* 54 : 95-99.
- 103) Vinik AL y Richardson DW. (1997). Implications of the diabetes control and complications trial for persons with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *South-Medicine Journal* 90 : 268 - 282.
- 104) Villa Kamel JA. (1991). Las plantas utilizadas en forma tradicional en la alimentación en una comunidad nahua del Este del Estado de Hidalgo. Tesis Licenciatura. UNAM. México.
- 105) Walter PH, Ellenbogen G, Lins W. (1969). Diabete pancreatico experimental no cao. *Rev Assoc Med Brasil* 15 (9) pp. 363-368.
- 106) Warren SG. (1983). Aocitic Pharmacognosia II. Devil's Club, *Oplopanax horridus*. *J of Ethnopharmacology* 7 : 313 - 320.

- 107) Watkins J. (1980). Insulin infusion systems, diabetic control and microvascular complications. *Br Med J* 280 (6211) 350-352.
- 108) White JR. (1996). The pharmacologic management of patients with type II diabetes mellitus in the era of new oral agents and insulin analogs. *Diabetes Spectrum* 9 : 227 - 234.
- 109) Zárate TA. (1989). Diabetes Mellitus. Editorial Trillas. 93 p.

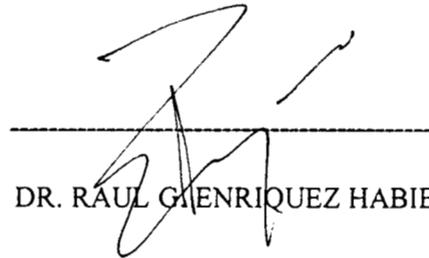
LOS INTEGRANTES DEL COMITE TUTORIAL DESIGNADOS POR LA DIVISION  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
METROPOLITANA, APROBO LA PRESENTE TESIS

EL DIA 26 DEL MES DE JUNIO DE 1998.

TUTORES

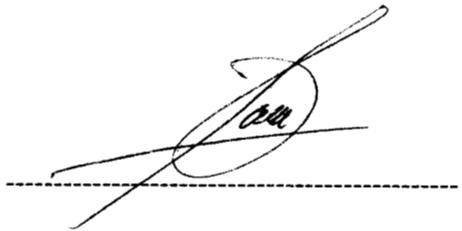


DR. RUBEN ROMAN RAMOS



DR. RAUL G. ENRIQUEZ HABIB

ASESORES



DR. HECTOR PONCE MONTER



DR. FCO. J. ALARCON AGUILAR