

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD XOCHIMILCO**

División Ciencias Biológicas Y De La Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

**Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica**

**Proyecto Genérico:** Obtención de Materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

**Etapas:** Extracción de principios activos o sustancias auxiliares a partir de productos naturales.

Determinación de propiedades hipoglucemiantes de Capitaneja (*Verbesina crocata*).

ELABORADO POR:

URBINA PASTRANA ARIANA

Matrícula: 2133026769

Fecha de inicio: 30 de Enero de 2019    Fecha de término: 21 de Noviembre de 2019

**ASESORES**

**M. en C. Francisco López Naranjo**

**M. en C. Rebeca Córdova Moreno.**

**CDMX Noviembre 2019**

## **DIRECTORIO**

**Dr. Eduardo Abel Peñalosa Castro**

**Rector General**

**Dr. José Antonio De Los Reyes Heredia**

**Secretario General**

**Dr. Fernando De León González**

**Rector de Unidad Xochimilco**

**Mtra. María Elena Contreras Garfias**

**Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

**Mtro. Jesús Obdulio López Murillo**

**Coordinador divisional del Servicio Social**

**Dr. J. Esteban Barranco Florido**

**Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos**

**Coordinadora de Licenciatura en Químico Farmacéutica Biológica**

**Dra. Karina Sánchez Herrera**

# ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS .....	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS .....	7
GLOSARIO DE TÉRMINOS MÉDICOS .....	8
INTRODUCCIÓN.....	10
1.- ASPECTOS TEÓRICOS .....	11
1.1 DIABETES MELLITUS.....	11
1.1.1 Clasificación.....	11
1.1.2 Signos y síntomas.....	11
1.1.3 Diagnóstico .....	12
1.1.4 Régimen terapéutico .....	12
1.2 DIABETES MELLITUS EN MÉXICO .....	14
1.3 TERAPIA HERBOLARIA .....	15
1.4 CAPITANEJA .....	16
1.4.1 Taxonomía de la capitaneja .....	16
1.4.2 Distribución en México .....	17
1.4.3 Usos terapéuticos .....	18
1.5 ALOXANA .....	18
2.-OBJETIVOS.....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos particulares. ....	19
3.- METODOLOGÍA .....	19
3.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE CAPITANEJA .....	19
3.2 IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS. ....	20
3.2.1 Alcaloides. ....	20
3.2.2 Saponinas.....	20
3.2.3 Contenido de fenoles. ....	20
3.2.4 Contenido de flavonoides totales. ....	21
3.3 MODELO ANIMAL.....	22
3.3.1 Animales.....	22
3.3.2 Inducción de diabetes .....	23
3.3.3 Determinación del efecto inmediato del extracto de Capitaneja sobre la glucemia. ....	23

3.3.4 Determinación del efecto preventivo del extracto de Capitaneja .....	23
4.- RESULTADOS.....	23
4.1 IDENTIFICACIÓN DE BIOACTIVOS.....	23
4.1.1 Alcaloides .....	23
4.1.2 Saponinas.....	24
4.1.3 Polifenoles .....	25
4.1.4 Flavonoides .....	27
4.2 MODELO ANIMAL.....	27
4.2.1 Determinación del efecto inmediato del extracto de Capitaneja sobre la glucemia. ....	27
4.2.2 Determinación del efecto preventivo del extracto de Capitaneja .....	29
5.- ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	30
5.1 IDENTIFICACIÓN DE BIOACTIVOS.....	30
5.2 MODELO ANIMAL.....	31
6.- CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFIA.....	33

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

DM: Diabetes Mellitus

DMT1: Diabetes Mellitus T1

DMT2: Diabetes Mellitus T2

ml: Mililitros

p/v: Peso-volumen

mg/dL: Miligramos por decilitros

Abs: Absorbancia

nm: Nanómetros

Prom: Promedio

mg/L: Miligramos por litro

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Ácido sulfúrico

EtOH: Etanol

GL: Gay-Lussac

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de número de defunciones por diabetes mellitus en México durante el año 2017.

Figura 2. Hoja de Capitaneja

Figura 3. Flor de Capitaneja

Figura 4. Tallo alado de Capitaneja

Figura 5. Precipitado de cristales resultado del reactivo de Hager

Figura 6. Cristales secos obtenidos de la reacción para alcaloides.

Figura 7. Prueba para determinación de saponinas

Figura 8. Recta de calibración para determinación de polifenoles

Figura 9. Representación gráfica del comportamiento de los niveles de glucosa a los 30 min, 1 hora, 2 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas, posteriores a la administración del extracto.

Figura 10. Ratón con Neuropatía Diabética.

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fármacos utilizados para el control de la DM.

Tabla 2. Plantas Hipoglucemiantes según información etnobotánica del Herbario Medicinal de Instituto Mexicano del Seguro Social

Tabla 3. Taxonomía de la Capitaneja

Tabla 4. Relación de soluciones y reactivos para preparación de la curva de calibración.

Tabla 5. Relación de la concentración y la absorbancia de la curva de calibración

Tabla 6. Lecturas de absorbancia de las muestras.

Tabla 7. Lecturas de absorbancia de quercetina y muestra experimental

Tabla 8. Glicemia del grupo Control Positivo

Tabla 9. Glicemia del grupo Control Negativo

Tabla 10. Niveles de glicemia del grupo experimental de efecto inmediato.

Tabla 11. Niveles de glicemia a las 48 horas de la administración del extracto.

Tabla 12. Niveles de glicemia del grupo experimental con tratamiento preventivo.

## GLOSARIO DE TÉRMINOS MÉDICOS

**Acantosis nigricans:** trastorno de la piel que se caracteriza por zonas de la piel oscuras, con cambios de color aterciopelados en los pliegues y los surcos. La piel afectada se puede engrosar. En la mayoría de los casos, la acantosis pigmentaria afecta a las axilas, la ingle y el cuello.

**Células beta:** Se encuentran en los Islotes de Langerhans en el páncreas. Su función es producir y liberar insulina, la hormona que regula los niveles de glucosa en la sangre.

**Diuresis osmótica:** La que está inducida por diuréticos osmóticos, que son sustancias farmacológicamente inertes que filtran en el glomérulo y no se reabsorben en el resto de la nefrona. Los principales son: manitol, urea, glucosa.

**Falla renal:** La falla renal, también llamada enfermedad renal de etapa terminal (ERET o ESRD por sus siglas en inglés), es la última etapa de la enfermedad renal crónica. Cuando tus riñones fallan, esto quiere decir que han parado de trabajar suficiente para sobrevivir sin el tratamiento de diálisis o un trasplante de riñón.

**Glucosa plasmática:** en ayunas es una prueba que mide el nivel de glucosa en sangre en un momento concreto.

**Glucosuria:** Presencia de glucosa en la orina.

**Hemoglobina Glicosilada:** es el valor de la fracción de hemoglobina (glóbulos rojos) que tiene glucosa adherida

**Hipercetonemia:** Concentración de cuerpos cetónicos en la sangre, superior al normal.

**Hiperglucemia:** La hiperglucemia es el término técnico que utilizamos para referirnos a los altos niveles de azúcar en la sangre. El alto nivel de glucemia aparece cuando el organismo no cuenta con la suficiente cantidad de insulina o cuando la cantidad de insulina es muy escasa. La hiperglucemia también se presenta cuando el organismo no puede utilizar la insulina adecuadamente.

**Hiperosmolaridad:** Aumento anormal de la concentración osmolar en la sangre o en otros líquidos corporales. Con frecuencia, es secundaria a una alteración del metabolismo hidroelectrolítico, pero se da también en la hiperglucemia severa, la utilización de agentes osmóticos (como glucosa, manitol, glicina), intoxicación por etanol, metanol o etilenglicol, etc. La sed y el mecanismo de concentración urinaria son las principales defensas contra la hiperosmolaridad.

**Hiperqueratosis:** engrosamiento de la capa externa de la piel.



**Homeostasis:** es la capacidad que tiene el cuerpo de mantener de constantes las condiciones del medio interno de un organismo, a pesar de grandes oscilaciones en el medio externo. Esto es, funciones como la presión sanguínea, temperatura corporal, frecuencia respiratoria y niveles de glucosa sanguínea, entre otras, son mantenidas en un intervalo restringido alrededor de un punto de referencia, a pesar de que las condiciones externas pueden estar cambiando.

**Infarto de corazón:** El ataque al corazón, ataque cardiaco, paro cardiaco o infarto, se manifiesta cuando se obstruye el flujo de sangre al corazón y si no se restablece rápidamente, el músculo cardiaco comienza a morir o necrosarse, es decir, se degenera el tejido por la muerte de sus células.

**Micción:** proceso mediante el cual la vejiga urinaria elimina la orina.

**Polidipsia:** necesidad persistente de ingerir líquidos.

**Polifagia:** necesidad excesiva de ingerir alimentos

**Poliuria:** abundante eliminación de orina.

**Resistencia a la insulina:** se caracteriza como una acción anormal de la insulina, ésta no metaboliza correctamente los niveles de azúcar (glucosa) en la sangre, de tal forma que se requiere más de esta sustancia; por lo que, el páncreas sigue produciendo insulina, pero no en la cantidad adecuada para controlar los niveles de glucosa en el torrente sanguíneo.

## INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad metabólica y crónica, producida por defectos en la secreción y/o acción de la insulina<sup>1</sup> caracterizado básicamente por la elevación crónica de la glucosa en la sangre.<sup>2</sup>

Se identifican dos tipos de diabetes, la DM tipo 1 (T1) y la DM tipo 2(T2). La diabetes mellitus T1 se produce como consecuencia del defecto en la secreción de insulina causado por la destrucción de células beta. La diabetes T2 es una alteración metabólica de base genética y ambiental caracterizada por hiperglucemia crónica y por complicaciones microvasculares y cardiovasculares, que incrementan sustancialmente la morbilidad y la mortalidad asociada con la enfermedad, además de reducir la calidad de vida de la persona que la padece.<sup>2</sup>

Generalmente en su etapa inicial no produce síntomas, por lo que, en la mayoría de las veces, cuando se detecta en una etapa tardía y no se trata adecuadamente ocasiona complicaciones de salud graves como infarto del corazón, ceguera, falla renal, pie diabético, amputación de las extremidades inferiores y muerte prematura.<sup>3</sup>

El tratamiento de la DM está dirigido a aliviar los síntomas, mejorar la calidad de vida y la prevención de complicaciones agudas y crónicas.<sup>4</sup>

La DM es una enfermedad que está muy presente en la población mexicana. Desde el punto de vista cultural, la población de nuestro país ha usado y buscado a lo largo de muchos años, otras alternativas terapéuticas a la atención médica. De esta forma la herbolaria se convierte en una de las vías más utilizadas y que ofrecen al enfermo la esperanza de encontrar opciones para el control de su enfermedad.<sup>5</sup>

Empíricamente se conocen diferentes plantas a las que se le atribuye un potencial hipoglucemiante. Una de ellas es la Capitaneja (*Verbesina crocata*), originaria de México. caracterizada por ser un arbusto de 1.5 a 4 m de altura. Las hojas tienen forma de lanza. Las flores son de color amarillo o naranja. Habita en climas cálido, semicálido y templado desde los 600 hasta los 1000 metros sobre el nivel del mar, asociada a los bosques tropicales.<sup>6</sup>

Empíricamente a esta planta se le atribuyen varios usos medicinales, algunos a los que más se le hace referencia, es contra afecciones ginecológicas como la retención de la placenta en el postparto (Morelos). Para limpiar la matriz, se administra el cocimiento de la raíz por vía oral y en ayunas (Michoacán). Contra trastornos digestivos por ejemplo diarrea, tifoidea y disentería, se emplean las ramas preparadas en cocimiento (Michoacán). Otros usos medicinales que recibe la capitaneja son: para mitigar ardores de cáncer, como desinfectante en heridas leves, contra fiebres intestinales y para tomar baños.<sup>6</sup>

Adicional a todas estas atribuciones terapéuticas, el extracto acuoso de flores y hojas de Capitaneja se asocia a una actividad hipoglicémica.<sup>6</sup>

## 1.- ASPECTOS TEÓRICOS

### 1.1 DIABETES MELLITUS

La DM es una gama de trastornos metabólicos que se originan de múltiples mecanismos patógenos, todos los cuales ocasionan hiperglucemia. Muchos factores, entre ellos los ambientales y genéticos contribuyen a su patogénesis, lo que incluye secreción insuficiente de insulina, disminución de la respuesta a la insulina endógena o exógena, incremento en la producción de glucosa, anomalías en el metabolismo de grasa y proteínas o combinaciones de éstos.<sup>8</sup>

El trastorno de la regulación metabólica que acompaña a la DM provoca alteraciones fisiopatológicas secundarias en muchos sistemas orgánicos, la DM es de las primeras causas de nefropatía en etapa terminal, de amputaciones de extremidades inferiores y de ceguera en adultos. También predispone a enfermedades cardiovasculares.<sup>9</sup>

Tales complicaciones pueden ser mitigadas en muchos pacientes mediante el control sostenido de la glucemia.<sup>7</sup>

Dado que está aumentando su incidencia en todo el mundo, seguirá siendo una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en un futuro próximo.<sup>8</sup>

#### 1.1.1 Clasificación.

La DM se clasifica con base en el proceso patógeno que culmina en hiperglucemia, a diferencia de criterios previos como edad de inicio o tipo de tratamientos. Las dos categorías amplias de la diabetes mellitus se designan tipo 1 y tipo 2. Sin embargo, cada vez se reconocen más otras formas de diabetes cuya patogenia se comprende mejor.<sup>8</sup>

Tanto la DMT1 y la DMT2 van precedidas por una fase de homeostasis anormal de la glucosa conforme progresan los procesos patogénicos. La DMT1 es el resultado de la deficiencia completa o casi total de la insulina, y la DMT2 es un grupo heterogéneo de trastornos que se caracterizan por grados variables de resistencia a la insulina, menor secreción de dicha hormona y una mayor producción de glucosa. Diversos defectos genéticos y metabólicos en la acción, secreción o ambas funciones de la insulina causan el fenotipo común de hiperglucemia en la DMT2 y tienen grandes posibilidades terapéuticas en la época actual en que se dispone de fármacos para corregir o modificar trastornos metabólicos específicos. La DMT2 es precedida por un periodo de homeostasis anormal de la glucosa clasificado como intolerancia a la glucosa en ayuno.<sup>8</sup>

#### 1.1.2 Signos y síntomas.

Los signos y síntomas suelen tener ciertas diferencias para la DMT1 y la DMT2.

#### 1.1.3.1 Diabetes Mellitus Tipo 1.

Es típico de pacientes con DMT1 que tienen deficiencia absoluta de insulina, presentar un complejo sintomático de hiperosmolaridad e hipercetonemia por acumulación de glucosa y ácidos grasos circulantes.

Como consecuencia de la diuresis osmótica causada por la hiperglucemia sostenida, se presenta un aumento en la micción y la sed. La diuresis produce pérdida de la glucosa, de agua libre y electrolitos en la orina. En ocasiones puede presentarse visión borrosa porque los cristalinos se exponen a líquidos hiperosmolares. La pérdida de peso a pesar del apetito normal o aumentado es una manifestación frecuente de este trastorno cuando se desarrolla en forma subaguda. Al principio dicha pérdida se debe a la deficiencia de agua, glucógeno y triglicéridos, después disminuye la masa muscular conforme a los aminoácidos se desvían para formar glucosa y cuerpos cetónicos.<sup>9</sup>

#### 1.1.3.2 Diabetes Mellitus Tipo 2.

La poliuria y la polidipsia en algunos casos pueden ser los síntomas iniciales en pacientes con DMT2. Sin embargo, muchos otros tienen un inicio insidioso de hiperglucemia y en un principio permanecen asintomáticos, hasta que en pruebas de laboratorio sistemáticas presentan glucosuria o hiperglucemia. En ocasiones, cuando la enfermedad ya tiene cierto tiempo de evolución, algunos pacientes presentan evidencia de complicaciones neuropáticas o cardiovasculares al momento del diagnóstico. En pacientes con DMT2 son frecuentes las infecciones crónicas de la piel. Muchos pacientes con dicha enfermedad tienen sobrepeso u obesidad. Incluso los que no tienen obesidad significativa, a menudo tienen depósitos adiposos de localización característica en el segmento superior del cuerpo. Algunos pacientes tienen acantosis nigricans, que se asocia con resistencia significativa a la insulina, hay hiperpigmentación e hiperqueratosis en la piel de las axilas, ingle y parte posterior del cuello.<sup>9</sup>

#### 1.1.3 Diagnóstico

Para el diagnóstico de los tipos de diabetes mellitus, pueden realizarse diferentes pruebas como por ejemplo glucosa en la orina, cetonas en orina y sangre, glucosa plasmática o sérica, prueba de tolerancia a la glucosa oral, cuantificación de hemoglobina glucosilada, entre otros.

#### 1.1.4 Régimen terapéutico

Existe una amplia variedad de opciones terapéuticas para regular la hiperglucemia que se dirigen a diferentes procesos que afectan la regulación de la glucosa.<sup>7</sup>

Los objetivos del tratamiento de la DMT1 o DMT2 son principalmente eliminar los síntomas relacionados con la hiperglucemia, eliminar o reducir las complicaciones de microangiopatía o macroangiopatía a largo plazo.<sup>8</sup>

Un elemento fundamental del tratamiento fármaco terapéutico es una dieta nutritiva y bien balanceada. En pacientes con DMT2, la limitación del consumo de carbohidratos y sustituir algunas de las calorías con grasas monosaturadas, como el aceite de oliva, aceite de canola o aceites de nueces y aguacate puede reducir las concentraciones de triglicéridos e incrementan las concentraciones de colesterol HDL, una dieta complementada con nueces, almendras, avellanas y aceite de oliva ha demostrado mejorar el control glucémico. En pacientes con obesidad y DMT2, la reducción de peso mediante la restricción de calorías es un objetivo importante.<sup>9</sup>

Para complementar el tratamiento de la diabetes, es necesario incluir algunos fármacos como los que se encuentran en la tabla 1.

Tipo	Fármaco	Dosis de la tableta	Dosis diaria	Duración de efecto
Sulfonilureasa	Acetohexamida	250 y 500 mg	0.25-1.5 g dosis única o dividida en dos dosis	8-24 h
	Clorpropamida	100 y 250 mg	0.1-0.5 g dosis única	24-72 h
	Tolbutamida	250 y 500 mg	0.5 – 2 g dividida en dos o tres dosis	6-12 h
Análogos de la meglitinida	Repaglinida	0.5, 1 y 2 mg	0.5 4 mg tres veces al día antes de las comidas	3 h
Derivado de la d-fenilalanina	Nateglinida	60 y 120 mg	60 0 120 mg tres veces al día antes de las comidas	1.5 h
Biguanidas	Metformina	500, 850 y 1000 mg	1-2.5 g; 1 tableta con las comidas dos veces al día	7-12 h
	Metformina liberación prolongada	de 500 y 750 mg	500-2000 mg una vez al día	Hasta 24 h
Tiazolidinedionas	Rosiglitazona	2, 4 y 8 mg	4-8 mg al día	Hasta 24 h
	Pioglitazona	15, 30 y 45 mg	15-45 mg al día	Hasta 24 h
Inhibidores de la glucosidasa $\alpha$	Acarbosa	50 y 100 mg	25-100 mg tres veces al día antes de las comidas	4 h

Tabla 1. Fármacos utilizados con mayor frecuencia en las prescripciones médicas, para el control de la DM. <sup>9</sup>

La tasa de morbilidad y mortalidad de las complicaciones diabéticas pueden reducirse con procedimientos de vigilancia oportunos y consistentes. La atención integral de la DM de ambos tipos requiere mucha atención en la nutrición, ejercicio y vigilancia del control glucémico, pero por lo general también incluye fármacos reductores de la glucemia.

## 1.2 DIABETES MELLITUS EN MÉXICO

De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, China, India, Estados Unidos, Brasil, Rusia y México, son en ese orden los países con mayor número de pacientes diabéticos.

Se ha estimado que la esperanza de vida de individuos con diabetes se reduce entre 5 y 10 años. En México, la edad promedio de las personas que murieron por diabetes en 2010 fue de 66.7 años, lo que sugiere una reducción de 10 años.<sup>10</sup>

En México, según el INEGI 2016 las principales causas de mortalidad son, en tercer lugar, tumores malignos con un 12.9%, en segundo lugar, diabetes con un 15.4% y en primer lugar enfermedades cardíacas con un 19.9%.<sup>11</sup>

De acuerdo con INEGI Estadísticas de mortalidad 2016, en México, se incrementaron los fallecimientos por diabetes. En 2010 hubo 82,964 defunciones, en 2015 se reportaron 98,521, en 2016 hubo un incremento a 105,574 muertes, y 2017 terminó con 106,525 defunciones, de los cuales, más casos fueron de mujeres.<sup>11</sup>

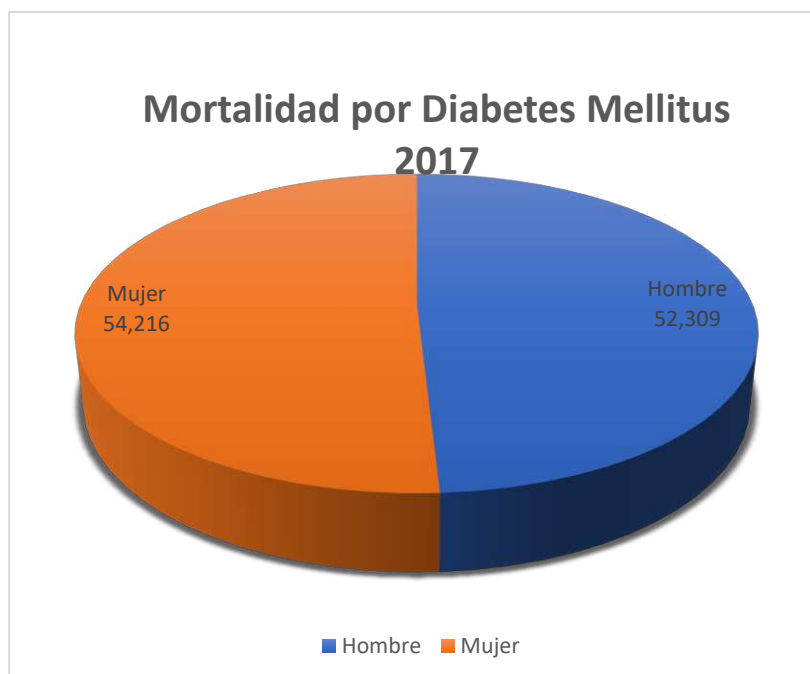


Fig 1. Representación de número de defunciones por DM en México durante el año 2017. INEGI

### 1.3 TERAPIA HERBOLARIA

La DM es una enfermedad que se ha convertido en algo tan común, que prácticamente todos tenemos en nuestro entorno a un familiar, amigo o conocido que padece diabetes. Ésta misma población, es la que tiene la necesidad de recurrir a opciones terapéuticas para la atención médica científica que no ofrece una cura total sino solo el control de la diabetes. Es así como la herbolaria se convierte en una de las vías más socorridas y que ofrecen al enfermo la esperanza de encontrar una curación. A principios del siglo XX, el Instituto Médico Nacional comenzó a inventariar algunas especies que eran utilizadas por la población como remedios contra la diabetes. Varios investigadores comenzaron a trabajar con plantas que la población refería como remedios para tratar la DM. A partir del trabajo etnobotánico, se comenzó la tarea de recuperar el saber médico popular sobre la herbolaria, lo cual se ha ido realizando con el fin de tener opciones para tratar diferentes enfermedades, no solo en México, sino en todo el mundo. En el caso de la DM, se estima que existen más de 100 especies utilizadas popularmente para tal enfermedad.<sup>11</sup>

En la tabla 2 se hace mención de algunas plantas del Herbario Medicinal de IMSS consideradas útiles dentro de la terapia herbolaria para tratamiento de la diabetes.

Tabla 2. Plantas Hipoglucemiantes según información etnobotánica del Herbario Medicinal de Instituto Mexicano del Seguro Social.<sup>11</sup>

FAMILIA	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	PARTE UTILIZADA
Asteraceae	Achualillo	<i>Bidens aurea (Ait.) Sherf</i>	Hojas
	Alcachofa	<i>Cynara scolymus L.</i>	Hojas y flores
	Árnica	<i>Zexmenia gnaphaloides Lav.</i>	Arte aérea
	Capitaneja	<i>Verbesina crocata (Cav.) Less</i>	Hojas
	Diente de León	<i>Taraxacum officinale Weber</i>	Raíz
Cactaceae	Nopal	<i>Nopalea indica L.</i>	Tallo
	Nopal blanco	<i>Opuntia atropes Rose</i>	Tallo
	Xoconoxtle	<i>Opuntia imbricata (Haw.) DC</i>	Fruto
Fabaceae	Guamúchil	<i>Pithecellobium dulce (Roxb.) Benth</i>	Corteza
	Mezquite	<i>Prosopis juliflora (Swartz) DC.</i>	Fruto
	Tamarindo	<i>Tamarindus indica L</i>	Fruto

En el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), se tiene conocimiento de 179 especies pertenecientes a 68 familias que son conocidas popularmente para tratamiento de diabetes, de las familias más representadas se encuentran; **Asteraceae, Cactaceae y Fabaceae**. Se sabe que las hojas son las estructuras vegetales más utilizadas, seguido de los tallos y raíces. <sup>11</sup>

## 1.4 CAPITANEJA

La capitaneja (***Verbesina Crocata***) es un componente llamativo de las selvas bajas y la vegetación perturbada derivada de ellas en el occidente de México. En algunos otros lugares la conocen como capitaneja anaranjada, árnica capitaneja, palo espinoso, etc.<sup>12</sup>

### 1.4.1 Taxonomía de la capitaneja

La capitaneja pertenece al Reino Plantae, Subreino Traqueobionta (plantas vasculares), Familia Asteraceae.<sup>12</sup>

Tabla 3. Taxonomía de la Capitaneja. <sup>12</sup>

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Traqueobionta</i>
Superdivisión	<i>Spermatophyta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Asterales</i>
Familia	<i>Asteraceae</i>
Género	<i>Verbesina</i>
Especie	<i>Verbesina Crocata</i>



Es caracterizada por ser un arbusto de 1.5 a 4 m de altura, generalmente se encuentra descansando sobre otra vegetación. Las hojas tienen las hojas opuestas en forma de lanza y algunos picos de color oscuro o verde claro, tienen una longitud de 8 a 16 cm de largo por 5 a 13 de ancho.<sup>12</sup>



Fig. 2 Hoja de Capitaneja.

El tallo tiene 4 alas. Las cabezuelas son grandes y de color amarillo o naranja generalmente con 100-200 flores tubulares de 1.3 cm de ancho y hasta 2.5 cm de alto. Es originaria de México. Habita en climas cálido, semicálido y templado desde los 600 hasta los 1000 metros sobre el nivel del mar, asociada a los bosques tropicales.<sup>12</sup>



Fig. 3 Flor de Capitaneja



Fig. 4 Tallo Alado de Capitaneja

#### 1.4.2 Distribución en México.

Puede encontrarse en los estados de Durango, Guerrero, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, entre otros.<sup>12</sup>

### 1.4.3 Usos terapéuticos.

Empíricamente se hace conoce por algunos testimonios que la usan para el dolor en riñón, algunos para tratar heridas en la piel, la han utilizado para el tratamiento de trastornos del aparato digestivo como diarrea.<sup>12</sup>

Adicional a todas estas atribuciones terapéuticas, el extracto acuoso de flores y hojas de Capitaneja se asocia a una actividad hipoglicémica.

Otras plantas de la familia de las Asteraceae mostraron una actividad hipoglucemiante como la ***Verbesina enceloides***.

## 1.5 ALOXANA

La Aloxana es una sustancia hidrofílica e inestable, producto de la oxidación del ácido úrico. Su vida media a pH neutro y 37 ° C es de aproximadamente 1.5 minutos y es más larga a temperaturas más bajas.<sup>13</sup>

La Aloxana ejerce su acción diabetogénica cuando se administra por vía parenteral: por vía intravenosa, intraperitoneal o subcutánea. La dosis de Aloxana requerida para inducir diabetes depende de la especie animal, la vía de administración y el estado nutricional. Los islotes humanos son considerablemente más resistentes a la Aloxana que los de ratas y ratones. Los animales en ayunas son más susceptibles a la acción de la Aloxana, mientras que el aumento de la glucosa en la sangre proporciona una protección parcial.

La acción citotóxica de este agente diabetogénico se da en las Células  $\beta$  del páncreas y está mediada por especies reactivas de oxígeno.<sup>13</sup>

Tras diversos estudios, se ha demostrado que la Aloxana evoca un aumento repentino en la secreción de insulina en presencia o ausencia de glucosa, dicho fenómeno aparece justo después del tratamiento con Aloxana y no se observa después de la exposición repetitiva de los islotes a este agente diabetogénico. El aumento repentino en la concentración de insulina en sangre también puede ser observado in vivo justo después de la inyección de Aloxana.

Sin embargo, la liberación de insulina inducida por Aloxana es de corta duración y es seguida por la supresión completa de la respuesta de los islotes a la glucosa. Cuando se usa una dosis diabetogénica, el tiempo de descomposición del Aloxana es suficiente para alcanzar el páncreas en cantidades que son perjudiciales.

La acción de la Aloxana en el páncreas está precedida por su rápida absorción por las células  $\beta$ . Se ha propuesto que la rápida absorción por las células secretoras de insulina es una de las características importantes que determinan la diabetogenicidad de la Aloxana. Otro aspecto se refiere a la formación de especies reactivas de oxígeno.<sup>13</sup>

Una absorción similar de Aloxana también tiene lugar en el hígado. Sin embargo, el hígado y otros tejidos son más resistentes a las especies reactivas de oxígeno en comparación con

las células  $\beta$  pancreáticas y esta resistencia los protege contra la toxicidad de la Aloxana. La formación de especies reactivas de oxígeno, esta precedida por la reducción del Aloxana. En las células  $\beta$  del páncreas esta reducción ocurre en presencia de diferentes agentes reductores. Dado que la Aloxana exhibe una alta afinidad por los compuestos celulares que contienen SH, los grupos reducidos de glutatión (GSH), cisteína y sulfhidrilo unidos a proteínas (incluidas las enzimas que contienen SH) son muy susceptibles a su acción. Sin embargo, otros agentes reductores como el ascorbato también pueden participar en esta reducción. <sup>13</sup>

## 2.-OBJETIVOS

Objetivo General.

- Identificar y caracterizar la Capitaneja (*Verbesina crocata*).

Objetivos particulares.

- Diseñar un método de extracción y concentración para algunos de los bioactivos contenidos en la Capitaneja.
- Determinar las propiedades hipoglucemiantes de la Capitaneja.
- Diseñar y probar estas propiedades de la Capitaneja en un modelo animal.

## 3.- METODOLOGÍA

### 3.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE CAPITANEJA

La Capitaneja fue colectada en el mes de abril del 2019 en el municipio de Tlaltizapán, Estado de Morelos. Fue identificada por la M. en C. Beatriz González Hidalgo, Responsable-Curadora del herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Las hojas de Capitaneja fueron secados a temperatura ambiente durante una semana.

A 10 g de material seco se le agregó 300 ml de agua destilada y se realizó destilación simple, dejándose en ebullición aproximadamente 2 horas.

## 3.2 IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.

Se realizaron algunas pruebas para la identificación de bioactivos contenidos en las hojas secas de Capitaneja.

### 3.2.1 Alcaloides.

Para la prueba de alcaloides se utilizó el Reactivo de Hager.

Para la preparación del reactivo se disolvió 1 g de ácido pícrico en 100 ml de agua destilada. Una porción del residuo acuoso de la destilación se disolvió en 2 ml de HCl al 50%, se agitó y se filtró. Posteriormente se agregaron 25 ml del ácido pícrico y se dejó reposar unos segundos. Se toma como positivo si hay formación de precipitado.

### 3.2.2 Saponinas

En un tubo de ensayo se agregó 0.1 ml de extracto acuoso y 2 ml de agua destilada. Se procedió a agitar durante 30 segundos. Se considera positiva la formación de burbujas si éstas se mantienen durante un minuto.

### 3.2.3 Contenido de fenoles.

Para la cuantificación de fenoles totales se realizó una curva de calibración con el Reactivo de Folín y se comparó con la muestra del extracto acuoso de Capitaneja.

#### 3.2.3.1 Preparación del reactivo carbonato/tartrato.

Para preparar 50 ml de reactivo, se pesaron 12 g de carbonato de sodio y 0.6 g de tartrato de sodio, y se disolvieron en aproximadamente 30 ml de agua desionizada, posteriormente se llevó a un aforo de 50 ml.

#### 3.2.3.2 Preparación de la solución patrón de fenol.

Para preparar 50 ml de solución patrón de fenol se disolvieron 2.5 mg de cristales de fenol en 30 ml de agua desionizada, y se llevó a un aforo de 50 ml.

En una serie de tubos de ensayo se agregaron los reactivos como se indica en la tabla 4.

Tabla 4. Relación de soluciones y reactivos para preparación de la curva de calibración.

	Blanco	2	3	4	5	6	Muestra
Solución patrón de fenol	0 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.2 ml	0.7 ml	1 ml	0 ml
Agua desionizada	15 ml	24.95 ml	24.9 ml	24.8 ml	24.3 ml	24 ml	15 ml
Reactivo de carbonato/tartrato	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Reactivo de Folín – Ciocalteu	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Concentración de fenol	0	0.25	0.5	1	3.5	5	-----
Extracto acuoso de <b><i>Verbesina Crocata</i></b>	0 ml	0 ml	0 ml	0 ml	0 ml	0 ml	10 ml

Las lecturas de la muestra se realizaron por triplicado. Todas las diluciones se leyeron en un espectrofotómetro UV a 700 nm.

### 3.2.4 Contenido de flavonoides totales.

Para la cuantificación de flavonoides totales se realizó por el método descrito por Venegas Casanova E. en su artículo “Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de ***Thea sinensis L.*** y su capacidad antioxidante.”

#### 3.2.4.1 Preparación de la muestra

Se tomaron 0.5 ml de extracto acuoso de Capitaneja y se llevó a reflujo durante dos horas con 40 ml de solución al 10% p/v de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 40 ml de solución de EtOH al 50%, posteriormente se enfrió y se filtró al vacío.

El residuo se lavó con 10 ml de EtOH al 50%. El filtrado se concentró en baño maría, posteriormente se enfrió en baño de hielo durante una hora.

La solución fue pasada a un matraz bola para colocarse en el rotavapor, aproximadamente una hora, hasta que el volumen disminuyó a la mitad. Después, fue pasado a un vaso de precipitado y nuevamente puesto en baño de hielo una hora más.

Al término de la hora, se dejó a temperatura ambiente 30 minutos y posteriormente se dejó en la estufa a 90 °C durante 15 horas.

La solución resultante se leyó en espectrofotómetro a 258 nm, tomando en cuenta que el blanco fue una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10%.

#### 3.2.4.2 Preparación de la solución patrón de Quercetina

El blanco fue EtOH al 96° GL.

Como patrón se empleó una solución preparada con 0.08 g de quercetina, disueltos con EtOH al 96° GL y se llevó a un aforo de 100 ml, esta solución representó una solución madre, de la cual se tomó una alícuota de 1 ml y se llevó a un aforo de 100 ml con EtOH al 96° GL.

Con un espectrofotómetro UV visible se determinó la absorbancia de las soluciones anteriores a 258 nm.

La expresión empleada para el cálculo fue la siguiente:

$$X = \frac{A_m \times P_R \times 5}{A_R} \times 100$$

Donde:

X: Contenido de flavonoides totales expresados como quercetina (%).

A<sub>m</sub>: Absorbancia de la solución muestra (nm)

P<sub>R</sub>: Peso de la sustancia de referencia (g)

A<sub>R</sub>: Absorbancia de la solución de referencia (nm)

### 3.3 MODELO ANIMAL

#### 3.3.1 Animales.

Para el desarrollo de un modelo animal se utilizaron ratones CD1 machos con un peso de 33 – 38 g, provenientes de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAM-X). Los animales se alojaron en un cubículo en el Bioterio a una temperatura de 22 a 24 °C con periodos de luz - oscuridad de 12 horas, tuvieron libre acceso a agua y comida (pellets especiales para roedores, encamado).

Se utilizaron tres grupos, el control positivo y control negativo con tres ratones cada uno; y dos grupos experimentales de 5 ratones cada uno.

### 3.3.2 Inducción de diabetes

Para la inducción de diabetes en ratones se utilizó una dosis de Aloxana al 2% en dosis de 196 mg/Kg, con previo ayuno de 12 h.

### 3.3.3 Determinación del efecto inmediato del extracto de Capitaneja sobre la glucemia.

En el primer grupo experimental se buscó evaluar el efecto del extracto de Capitaneja en ratones hiperglucémicos, por lo que cinco días posteriores a la administración de Aloxana se determinó la glucemia con un Glucómetro Accu-check Active, solo los ratones que presentaban glucemia mayor a 200 mg/dL fueron tomados para el experimento, dando un total de 30% de ratones hiperglucémicos a los que se les administro extracto al 80% tomando en cuenta la referencia de 0.1 ml por cada 10 g de peso. Los niveles de glucemia fueron medidos con una muestra de sangre obtenida de la cola de los ratones a los 30 min, 60 min, 120 min, 24 h, 48 h y 72 h posteriores a la administración del extracto de Capitaneja.

### 3.3.4 Determinación del efecto preventivo del extracto de Capitaneja

En un segundo grupo experimental se buscó evaluar si el extracto fresco de Capitaneja puede ser considerado como tratamiento preventivo de hiperglucemia, por lo que a ratones sanos se les administró extracto al 80 % durante dos semanas y posterior a ese tiempo se indujo la hiperglucemia con Aloxana. Cinco días posteriores a la exposición a Aloxana se determinó la glucemia.

## **4.- RESULTADOS.**

La cantidad de extracto acuoso obtenido de la destilación simple después de aproximadamente 2 horas de ebullición fue de 68 ml. Dicho extracto fue utilizado para realizar las pruebas de identificación de bioactivos.

### 4.1 IDENTIFICACIÓN DE BIOACTIVOS.

Con las metodologías propuestas, para identificación de bioactivos, se obtuvieron los siguientes resultados.

#### 4.1.1 Alcaloides

La reacción que tuvo lugar con el reactivo de Hager fue muy rápida, aproximadamente se dejó reposar dos minutos y dicha reacción dio como resultado la formación de un precipitado en forma de cristales de coloración amarillenta, como se muestran en la figura 5.

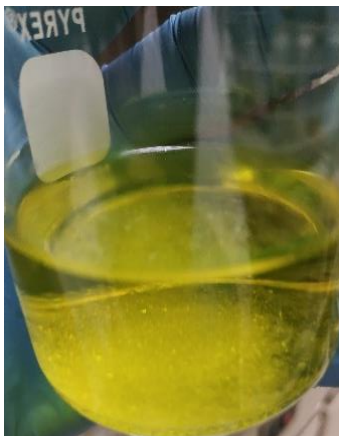


Fig. 5 Precipitado de cristales resultado del reactivo de Hager.

Los cristales obtenidos como producto de la reacción para alcaloides se filtraron y se dejaron secar a temperatura ambiente en una caja Petri durante 48 horas (Figura 6).

Trascurrido el tiempo, se determinó el punto de fusión dando como resultado una fusión a 113°C.



Fig. 6 Cristales secos obtenidos de la reacción para alcaloides.

#### 4.1.2 Saponinas



Las burbujas obtenidas después de agitar el tubo de ensayo se mantuvieron por el tiempo indicado, por lo que se tomó como positivo. (Figura 7)



Fig 7. Prueba para determinación de saponinas.

#### 4.1.3 Polifenoles

Las lecturas de absorbancia obtenidas en el espectrofotómetro se reportan en la tabla 5.

Tabla 5. Relación de la concentración y la absorbancia de la curva de calibración

Concentración (mg/L)	Absorbancia (nm)
0.00	0.033
0.25	0.051
0.50	0.063
1.00	0.077
3.50	0.181
5.00	0.246

A partir de los valores de absorbancia obtenidos de cada concentración se construyó la correspondiente recta de calibración (promedio de tres curvas), obteniendo como resultado un índice de correlación con valor de 0.9983.

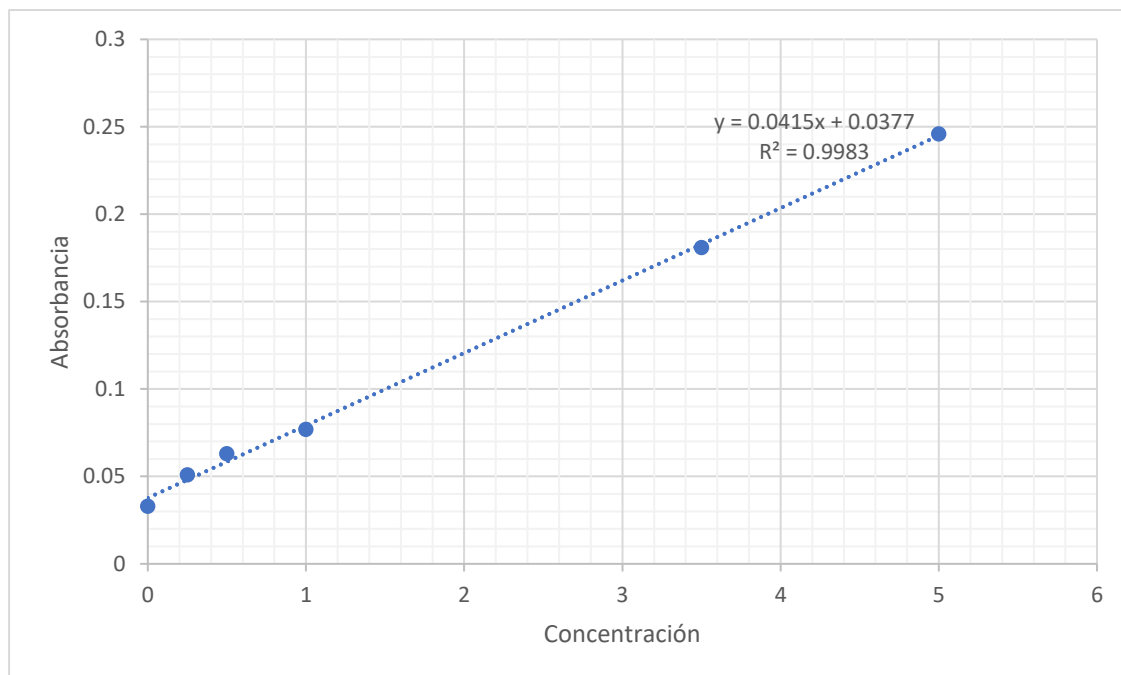


Fig. 8 Curva de calibración para determinación de polifenoles.

Los valores de absorbancia de los tubos con la muestra se encuentran en la tabla 6. Como se realizó por triplicado, fue necesario obtener un promedio de los tres datos obtenidos.

Tabla 6. Lecturas de la absorbancia de las muestras.

Muestra	
Tubo	Abs
1	0.089
2	0.083
3	0.096
Prom	0.089

Con los valores de la curva de calibración y los valores de absorbancia de las muestras fue posible determinar la concentración de fenoles, dando como resultado un promedio de 1.259 mg/L de fenoles en la muestra analizada, lo cual corresponde si se traza el intercepto en la curva de calibración.

#### 4.1.4 Flavonoides

Las absorbancias obtenidas del análisis en el espectrofotómetro UV Visible de la quercetina y de la solución que contenía la muestra experimental se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Lecturas de absorbancia de quercetina y muestra experimental

	Solución de quercetina	Muestra experimental
Abs (nm)	0.411 nm	0.123

fueron de 0.411nm y 0.123 nm respectivamente. Con esto valores fue posible determinar el porcentaje contenido, dando como resultado 11.97 % de contenido de fenoles totales.

## 4.2 MODELO ANIMAL

### 4.2.1 Determinación del efecto inmediato del extracto de Capitaneja sobre la glucemia.

Cinco días posteriores a la administración de Aloxana se determinaron los niveles de glicemia, las tablas 8 y 9 son los controles; positivo (hiperglucemia sin tratamiento) y negativo (administración de solución salina). La tabla 10 muestra los niveles de glucosa basales, y a partir de la administración del extracto de Capitaneja el comportamiento de los niveles de glucosa a los 30 minutos, 1, 2, 24, 48 y 72 horas posteriores.

Tabla 8. Glicemia del grupo Control

Control Positivo	
No.	Glicemia
1	369 mg/dL
2	Hi*
3	473 mg/dL

Tabla 9. Glicemia del grupo Control

Control Negativo	
No.	Glicemia
1	133 mg/dL
2	94 mg/dL
3	103 mg/dL

Hi\* significa que la glicemia se encuentra por encima de los 600 mg/dl, que es límite de detección de glucosa en sangre determinada con el glucómetro.

Tabla 10. Glicemia del grupo experimental.

Grupo 1							
No.	Glicemia basal	Glicemia 30 min	Glicemia 1 hora	Glicemia 2 horas	Glicemia 24 horas	Glicemia 48 horas	Glicemia 72 horas
1	508 mg/dL	526 mg/dL	Hi*	509 mg/dL	278 mg/dL	201 mg/dL	473 mg/dL
2	503 mg/dL	471 mg/dL	584 mg/dL	Hi*	506 mg/dL	407 mg/dL	461 mg/dL
3	439 mg/dL	499 mg/dL	472 mg/dL	459 mg/dL	425 mg/dL	412 mg/dL	499 mg/dL

\*Hi: significa que la glicemia se encuentra por encima de los 600 mg/dL. que es límite de detección de glucosa en sangre determinada con el glucómetro.

En la figura 9 puede observarse mejor el comportamiento de los niveles de glucosa en el transcurrir de 72 horas, en la parte superior derecha de la imagen se observa más a detalle las primeras dos horas posteriores a la administración del extracto de Capitaneja.

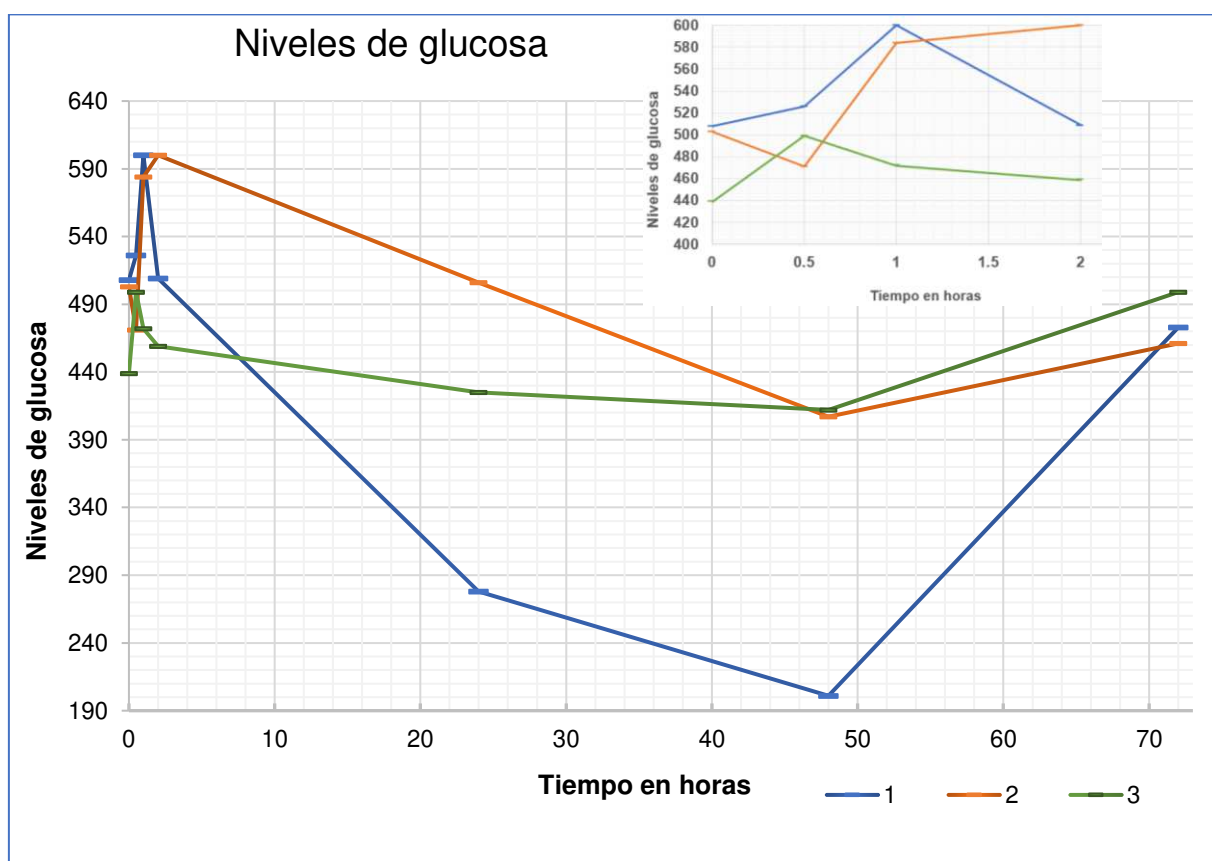


Fig. 9 Representación gráfica del comportamiento de los niveles de glucosa a los 30 min, 1, 2, 24, 48 y 72 horas, posteriores a la administración del extracto.

Para corroborar el efecto observado a las 48 horas, se planteó la administración del extracto de Capitaneja a la misma concentración, tomando la glucosa basal antes de la administración de dicho extracto. Esta metodología se repitió en dos semanas diferentes.

Tabla 11. Niveles de glicemia a las 48 h de la administración del extracto

No	Primera semana		Segunda semana	
	Glucosa Basal	48 h post admón	Glucosa basal	48 h post admón
1	541	473	534	359
2	559	508	531	431
3	560	499	540	495

#### 4.2.2 Determinación del efecto preventivo del extracto de Capitaneja

Del grupo que tuvo dos semanas de tratamiento preventivo con extracto al 80%, cinco días después de la administración de Aloxana se tomó muestra de sangre para determinar la glucosa. Las lecturas de los niveles de glucosa se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12. Niveles de Glicemia del grupo experimental con tratamiento preventivo

No.	Lectura de glucosa
1	142 mg/dL
2	414 mg/dL
3	144 mg/dL
4	107 mg/dL
5	112 mg/dL
6	96 mg/dL
7	117 mg/dL

## 5.- ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 5.1 IDENTIFICACIÓN DE BIOACTIVOS

#### 5.1.1 Alcaloides

Con la metodología propuesta para la identificación de alcaloides, se confirmó la presencia de estos en el residuo acuoso de las hojas secas de *Verbesina Crocata*, debido a la formación de un precipitado color amarillo en forma de cristales.

#### 5.1.2 Saponinas

De acuerdo con la información teórica de la prueba de la espuma para identificación de saponinas, el ensayo realizado con el extracto acuoso se tomó como positivo, interpretando que entre los bioactivos de las hojas de Capitaneja se encuentran saponinas, sin embargo, por falta de tiempo no se realizó algún otro procedimiento para la identificación más exacta del tipo de saponinas.

#### 5.1.3 Polifenoles.

La metodología colorimétrica desarrollada, permitió el análisis de compuestos orgánicos que presentan anillos aromáticos como Fenoles. Este método es bastante sensible y permite medir contenidos de compuestos fenólicos. El uso del Reactivo de Folin-Ciocalteu es de suma importancia ya que los compuestos fenólicos reaccionan con dicho reactivo a pH básico dando lugar a una coloración azul susceptible a una determinación espectrofotométrica. El haber realizado la metodología por triplicado nos ayudó a conocer la capacidad de repetibilidad, es decir obtener datos consistentes al replicar el método. La gráfica construida con el promedio de las absorbancias dio un coeficiente de correlación que es cercano a 1 indicativo que existe una asociación casi lineal entre la absorbancia y la concentración. Basados en los datos arrojado por la gráfica se determinó la concentración de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de Capitaneja, de igual forma, no se realizó un análisis más detallado para conocer que polifenoles se encontraban.

#### 5.1.4 Flavonoides.

Con las lecturas de absorbancia obtenidas del análisis en el espectrofotómetro UV Visible de la solución de quercetina y de la solución que contenía la muestra experimental de Capitaneja fueron de 0.411nm y 0.123 nm respectivamente; con dichas absorbancias se determinó el contenido porcentual de flavonoides, con la fórmula que plantea Venegas Casanova E. en su artículo "Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis L.* y su capacidad antioxidante."; dando como resultado 11.97 % de contenido de fenoles totales.

## 5.2 MODELO ANIMAL

A partir de la administración de la Aloxana, cada día se tomó muestra de sangre de la cola de los ratones y fue hasta el quinto día donde sus niveles de glucosa se elevaron por arriba de los 200 mg/dL.

### 5.2.1 Determinación del efecto inmediato del extracto de la Capitaneja sobre la glucemia.

El análisis de datos del comportamiento de los niveles de glucosa en sangre de los ratones es un poco confuso en un inicio, pues durante las primeras dos horas los niveles no tienen un comportamiento estable, sino por el contrario, suben y bajan al transcurrir del tiempo. Se comienza a ver un mejor comportamiento en los niveles de glucosa de la muestra tomada a las 24 horas, donde el 100% de los ratones presenta un ligero descenso, lo mismo ocurre a las 48 horas, donde nuevamente baja un poco más el nivel de glucosa. Este efecto, termina después de las 48 y antes de las 72 horas, ya que, los niveles de glucosa en sangre nuevamente comienzan a incrementar. Estas variaciones en los niveles de glucosa en las primeras dos horas podrían hacernos pensar que, en un principio, recién administrado el extracto, el organismo del animal a comenzar a reaccionar a la dosis hipoglucemiante, sin embargo, la hiperglucemia ya está instalada en su sistema y ya ha causado graves daños, que son difíciles de controlar con una dosis para evaluar el efecto inmediato.

Es una planta que ofrece una alternativa complementaria al tratamiento de esta patología, lo cual posibilita enriquecer nuestro bagaje etnobotánica.

En un segundo ensayo, para corroborar el efecto observado a las 48 horas, se planteó nuevamente la administración del extracto de Capitaneja a la misma concentración, tomando la glucosa basal antes de la administración de dicho extracto. Una vez transcurridas 48 h se tomó nuevamente una muestra de sangre de la cola de los ratones para determinar niveles de glucosa. Se dejó una semana como tiempo para eliminación del extracto, y la semana siguiente se repitió el procedimiento nuevamente. En ambas semanas los niveles de glucosa medidos a las 48 horas fueron inferiores a los niveles obtenidos en la medición basal, lo que confirma que el máximo efecto se encuentra entre las 24 a 48 horas a partir de la administración del extracto de Capitaneja.

Hubo un ratón que llamo la atención, porque cuando ya había desarrollado hiperglucemia parecía haber perdido un ojo, no lograba abrirlo, y cuando se sometió a la administración de extracto de Capitaneja, nuevamente abrió el ojo. Recurriendo a la literatura se concluyó que presento lo que parecía ser neuropatía diabética, que es un tipo de daño en los nervios bloqueando algunos movimientos, esto a causa de los altos niveles de glucosa.



Fig. 10 Ratón con Neuropatía Diabética

#### 5.2.2 Determinación del efecto preventivo del extracto de Capitaneja.

En los resultados obtenidos se puede interpretar que la administración del extracto de Capitaneja protege a los animales de sufrir un daño ante la exposición de la Aloxana, a excepción de uno de ellos que desarrolló hiperglucemia. Lo que nos haría recurrir a lo que ya se sabe, los resultados son mejores, cuando se trata de prevenir, que cuando ya existe una enfermedad y se busca un tratamiento para curar o por lo menos para disminuir las molestias o efectos a consecuencia de dicha enfermedad.

## 6.- CONCLUSIONES

Fue posible mediante diferentes pruebas la identificación de algunos bioactivos como saponinas, alcaloides, polifenoles y flavonoides contenidos en las hojas secas de Capitaneja, así como el diseño de una metodología de destilación para la obtención del extracto acuoso de hojas de dicha planta, que posteriormente fue utilizado para evaluar las propiedades hipoglucemiantes en un modelo animal.

A pesar de que se lograron algunos avances en la investigación de la Capitaneja, aún falta mucho por investigar, en principio para conocer más a fondo los compuestos bioactivos contenidos e identificarlos. Por otro lado, el desarrollo de un modelo animal con una "n" mayor para un modelo similar al empleado en este trabajo, o en su defecto, evaluar alguna otra propiedad terapéutica.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Durán Agüero S, Carrasco Piña E, Araya Pérez M. Alimentación y Diabetes. Nutr Hosp [Internet] 2012 [Consultado 8 Ene 2019]; 27(4):1031-1036. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n4/10\\_revision09.pdf](http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n4/10_revision09.pdf)
2. Figuerola D. (Ed.) Manual de educación terapéutica en diabetes. [Internet] Madrid. Diaz de Santos S. A. 2011. [Consultado 8 Ene 2019]. Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?id=vSMBAQAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=manual+de+educacion+terapeutica&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwio8Nas2vDfAhUN7qwKHYm0By8Q6AEIKDAA#v=onepage&q=manual%20de%20educacion%20terapeutica&f=false>
3. Hernández Ávila M, Gutiérrez JP, Reynoso Noverón N. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. Salud Publica Mex [Internet] 2013 [Consultado 8 Ene 2019]; supl 2: S129-S136. Disponible: <https://www.scielosp.org/pdf/spm/2013.v55suppl2/s129-s136/es>
4. Mateos Santa Cruz N, Zacarías Castillo R. Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. Rev Hosp Gral Dr. M Gea González [Internet] 2002 [Consultado 8 Ene 2019]; Vol 5 33-41. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/h-gea/gg-2002/gg021-2d.pdf>
5. Aguilar Contreras A, Xolalpa Molina S. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. Ciencia [Internet] 2002 [Consultado 8 Ene 2019]; 24-35 Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53\\_3/herbolaria\\_mexicana.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53_3/herbolaria_mexicana.pdf)
6. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. [Internet] (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Capitaneja. [Consultado 8 Ene 2019] Disponible: [\[http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7043\]](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7043)
7. Randa Hilal-Dandan, Laurence L. Brunton. Goodman & Gilman. Manual de farmacología y terapéutica, 2e. San Diego, California. AMGH Editora, 2015
8. Dennis Kasper et. Al. Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e. McGRAW-HILL 2016
9. Maxine A. Papadakis, et al. Diabetes mellitus e hiperglucemia. Diagnóstico clínico y tratamiento. New York. 2017 Disponible: [\[http://bidi.uam.mx:6936/content.aspx?bookid=2197&sectionid=174407823.\]](http://bidi.uam.mx:6936/content.aspx?bookid=2197&sectionid=174407823.)
10. Hernandez Ávila M. et al. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. Salud Publica de México. Vol. 55. Supl. 2. Cuernavaca 2013. Disponible: [\[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342013000800009\]](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342013000800009)
11. Contreras Aguilar A. et al. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. Ciencia. 2002. Disponible: [\[https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53\\_3/herbolaria\\_mexicana.pdf\]](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53_3/herbolaria_mexicana.pdf)
12. CONABIO [Consultado 8 Ene 2019] Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/verbesina-crocata/fichas/ficha.htm>
13. T. SZKUDELSKI. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznan, Poland. 2001.

**Vo. Bo. de los asesores**

**Francisco López Naranjo**

**Rebeca Córdova Moreno**



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

### UNIDAD XOCHIMILCO

División Ciencias Biológicas Y De La Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

### Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

**Proyecto Genérico:** Obtención de Materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

**Etapas:** Extracción de principios activos o sustancias auxiliares a partir de productos naturales.

Determinación de propiedades hipoglucemiantes de Capitaneja (*Verbesina crocata*).

ELABORADO POR:

URBINA PASTRANA ARIANA

Matrícula: 2133026769

Dirección: Periférico Sur 7650, Conjunto Urbano Cuemanco, Col Granjas Coapa, C.P. 14330, Tlalpan CDMX.

Correo: anewii0207@gmail.com

Teléfono fijo: 5583754077

Celular: 5534652927

Fecha de inicio: 30 de Enero de 2019

Fecha de término: 21 de Noviembre de 2019

### ASESORES

M. en C. Francisco López Naranjo

M. en C. Rebeca Córdova Moreno.

CDMX Noviembre 2019

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad metabólica y crónica, producida por defectos en la secreción y/o acción de la insulina<sup>1</sup> caracterizado básicamente por la elevación crónica de la glucosa en la sangre.<sup>2</sup>

Se identifican dos tipos de diabetes, la DM tipo 1 (T1) y la DM tipo 2(T2). La diabetes mellitus T1 se produce como consecuencia del defecto en la secreción de insulina causado por la destrucción de células beta. La diabetes T2 es una alteración metabólica de base genética y ambiental caracterizada por hiperglucemia crónica y por complicaciones microvasculares y cardiovasculares, que incrementan sustancialmente la morbilidad y la mortalidad<sup>2</sup>.

Generalmente en su etapa inicial no produce síntomas, por lo que, en la mayoría de las veces, cuando se detecta en una etapa tardía y no se trata adecuadamente ocasiona complicaciones de salud graves<sup>3</sup>

La Diabetes Mellitus es una enfermedad que está muy presente en la población mexicana. Desde el punto de vista cultura, la población de nuestro país ha usado a lo largo de muchos años, otras alternativas terapéuticas a la atención médica. De esta forma la herbolaria se convierte en una de las vías más utilizadas y que ofrecen al enfermo la esperanza de encontrar opciones para el control de su enfermedad.<sup>4</sup>

Empíricamente se conocen diferentes plantas a las que se le atribuye un potencial hipoglucemiante.

Una de ellas es la Capitaneja (**Verbesina crocata**), originaria de México. Caracterizada por ser un arbusto de 1.5 a 4 m de altura. Las hojas tienen forma de lanza. Las flores son de color amarillo o naranja. Habita en climas cálido, semicálido y templado desde los 600 hasta los 1000 metros sobre el nivel del mar, asociada a los bosques tropicales.<sup>5</sup> La capitaneja pertenece al Reino Plantae, Subreino Traqueobionta (plantas vasculares), Familia Asteraceae.<sup>6</sup>

De forma empírica a esta planta se le atribuyen varios usos medicinales, algunos a los que más se le hace referencia, es contra afecciones ginecológicas, contra trastornos digestivos por ejemplo diarrea. Otro uso medicinal que recibe la capitaneja es como desinfectante en heridas leves. Adicional a todas estas atribuciones terapéuticas, el extracto acuoso de flores y hojas de Capitaneja se asocia a una actividad hipoglicémica.<sup>7</sup>

Ante la necesidad de fuentes alternativas de terapias herbolarias hipoglucemiantes, se realizaron pruebas de identificación de bioactivos (alcaloides, saponinas, polifenoles y flavonoides) contenidos en las hojas de Capitaneja (**Verbesina crocata**) así como el efecto del extracto acuoso de Capitaneja sobre los niveles de glucosa sanguíneos en ratones normales e hiperglucémicos inducidos con Aloxana en dosis de 196 mg/Kg con previo ayuno de 12 horas. La glucemia se determinó con un glucómetro Accu-check Active, a los ratones con valores mayores a 200 mg/dL de glucosa en sangre se les administró extracto acuoso de hojas secas de Capitaneja al 80% tomando muestra de sangre en diferentes tiempos para analizar el comportamiento de los niveles de glucosa de los ratones. A partir de las 24 horas y hasta las 48 horas posteriores a la administración del extracto

disminuyeron los niveles de glucosa. Un segundo grupo de ratones fue administrado con extracto como tratamiento preventivo, y posteriormente se sometieron a una dosis diabética de Aloxana, solo un ratón desarrolló hiperglucemia, lo que puede interpretarse como que el extracto protegió a los animales de la dosis de Aloxana.

Palabras clave: *Verbesina crocata* hiperglucemia, diabetes, Aloxana.

## **OBJETIVOS**

Objetivo General.

- Identificar y caracterizar la Capitaneja (***Verbesina crocata***).

Objetivos particulares.

- Diseñar un método de extracción y concentración para algunos de los bioactivos contenidos en la Capitaneja.
- Determinar las propiedades hipoglucemiantes de la Capitaneja.
- Diseñar y probar estas propiedades de la Capitaneja en un modelo animal.

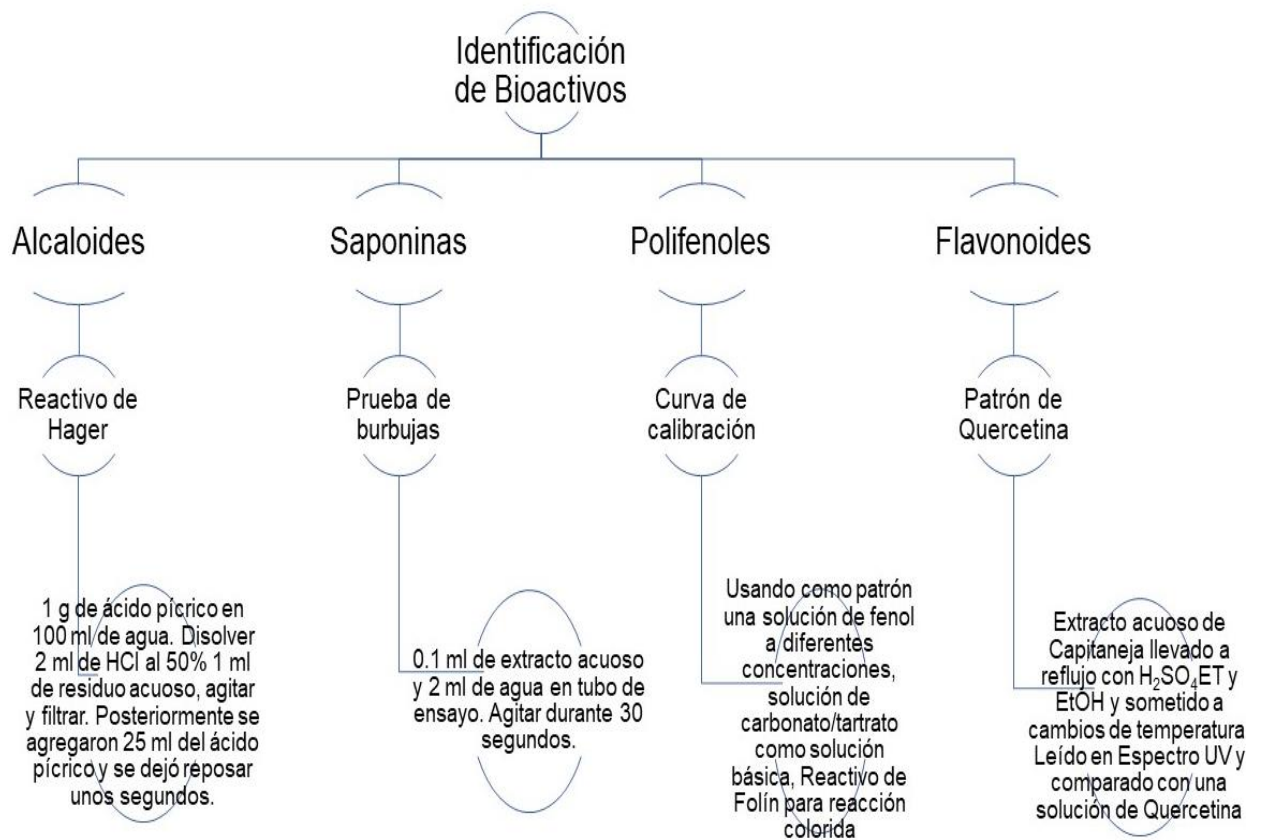
## **METODOLOGÍA**

La Capitaneja fue colectada en el mes de abril del 2019 en el municipio de Tlaltizapán, Estado de Morelos. Fue identificada por la M. en C. Beatriz González Hidalgo, Responsable-Curadora del herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Las hojas de Capitaneja fueron secadas a temperatura ambiente durante una semana. A 10 g de material seco se le agregó 300 ml de agua destilada y se realizó destilación simple.

## **IDENTIFICACIÓN DE BIOACTIVOS**

Para conocer algunos bioactivos contenidos en el extracto acuoso de las hojas de Capitaneja, se realizaron las siguientes pruebas.

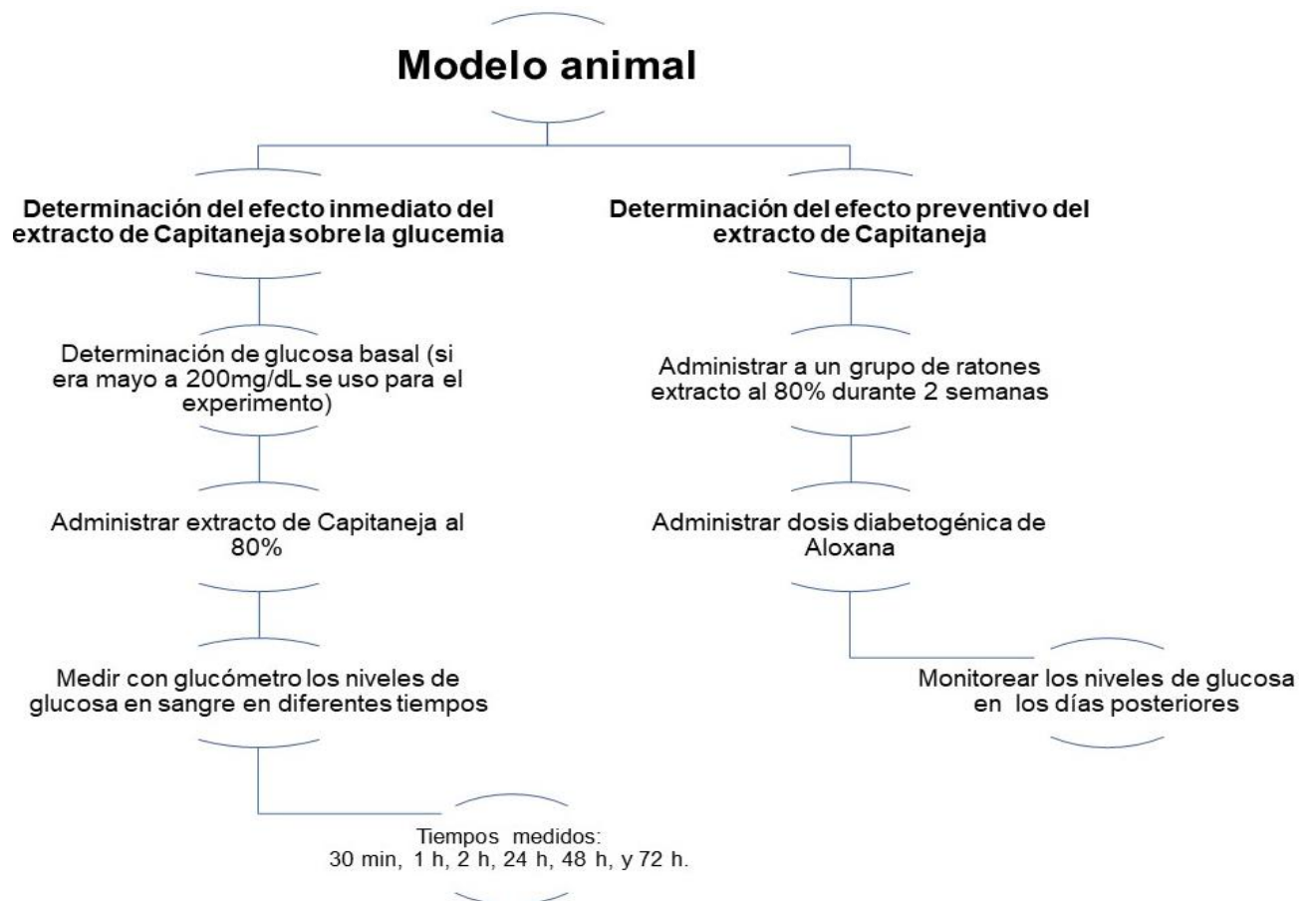


## MODELO ANIMAL

Se utilizaron ratones CD1 machos con un peso de 33 – 38 g, provenientes de UPEAL de la UAM-X. Los animales se alojaron en un cubículo en el Bioterio a una temperatura de 22 a 24 °C con periodos de luz – oscuridad de 12 horas, tuvieron libre acceso a agua y comida.

Para el modelo se utilizaron tres grupos, el control positivo y control negativo con tres ratones cada uno; y dos grupos experimentales de 5 ratones cada uno.

Para la inducción de diabetes en ratones se utilizó una dosis de Aloxana al 2% con relación de 196 mg/Kg, con previo ayuno de 12 h.



## RESULTADOS

### BIOACTIVOS

Los resultados de las pruebas realizadas al extracto de hojas de Capitaneja se encuentran en la siguiente tabla.

BIOACTIVO	Datos de referencias	Interpretación	Resultado obtenido
Alcaloides	Precipitado amarillo	Positivo	Positivo
Saponinas	Formación de burbujas	Positivo	Positivo
Polifenoles	Coloración que da lectura en espectro UV	Positivo	Positivo
Flavonoides	Lectura en espectro UV	Positivo	Positivo

## MODELO ANIMAL

Los niveles de glucosa en sangre en diferente tiempo se encuentran en la siguiente tabla.

Grupo 1							
No.	Glicemia basal	Glicemia 30 min	Glicemia 1 hora	Glicemia 2 horas	Glicemia 24 horas	Glicemia 48 horas	Glicemia 72 horas
1	508 mg/dL	526 mg/dL	Hi*	509 mg/dL	278 mg/dL	201 mg/dL	473 mg/dL
2	503 mg/dL	471 mg/dL	584 mg/dL	Hi*	506 mg/dL	407 mg/dL	461 mg/dL
3	439 mg/dL	499 mg/dL	472 mg/dL	459 mg/dL	425 mg/dL	412 mg/dL	499 mg/dL

\*Hi: significa que la glicemia se encuentra por encima de los 600 mg/dL. que es límite de detección de glucosa en sangre determinada con el glucómetro.

Los niveles de glucosa disminuyen notablemente a las 24 horas y la tendencia sigue hasta las 48 horas, posterior a este tiempo, el efecto hipoglucemiante tiende a desaparecer.

Los niveles de glucosa posterior a las dos semanas de tratamiento preventivo con extracto de hojas de Capitaneja se muestran en la siguiente tabla.

No.	Lectura de glucosa
1	142 mg/dL
2	414 mg/dL
3	144 mg/dL
4	107 mg/dL
5	112 mg/dL
6	96 mg/dL
7	117 mg/dL

Como se puede observar, solo el ratón número 2 desarrolló diabetes, esto podría indicar que el extracto funcionó como tratamiento preventivo en el 85% de los roedores.

## CONCLUSIONES

Fue posible mediante diferentes pruebas la identificación de algunos bioactivos como saponinas, alcaloides, polifenoles y flavonoides contenidos en las hojas secas de Capitaneja, así como el diseño de una metodología de destilación para la obtención del extracto acuoso de hojas de dicha planta, que posteriormente fue utilizado para evaluar las propiedades hipoglucemiantes en un modelo animal.

A pesar de que se lograron algunos avances en la investigación de la Capitaneja, aún falta mucho por investigar, en principio para conocer más a fondo los compuestos bioactivos contenidos e identificarlos. Por otro lado, el desarrollo de un modelo animal con una "n" mayor para un modelo similar al empleado en este trabajo, o en su defecto, evaluar alguna otra propiedad terapéutica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Durán Agüero S, Carrasco Piña E, Araya Pérez M. Alimentación y Diabetes. Nutr Hosp [Internet] 2012 [Consultado 8 Ene 2019]; 27(4):1031-1036. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n4/10\\_revision09.pdf](http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n4/10_revision09.pdf)
2. Figuerola D. (Ed.) Manual de educación terapéutica en diabetes. [Internet] Madrid. Diaz de Santos S. A. 2011. [Consultado 8 Ene 2019]. Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?id=vSMBAQAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=manual+de+educacion+terapeutica&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwio8Nas2vDfAhUN7qwKHYm0By8Q6AEIKDAA#v=onepage&q=manual%20de%20educacion%20terapeutica&f=false>
3. Hernández Ávila M, Gutiérrez JP, Reynoso Noverón N. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. Salud Publica Mex [Internet] 2013 [Consultado 8 Ene 2019]; supl 2: S129-S136. Disponible: <https://www.scielosp.org/pdf/spm/2013.v55suppl2/s129-s136/es>
4. Aguilar Contreras A, Xolalpa Molina S. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. Ciencia [Internet] 2002 [Consultado 8 Ene 2019]; 24-35 Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53\\_3/herbolaria\\_mexicana.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53_3/herbolaria_mexicana.pdf)
5. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. [Internet] (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Capitaneja. [Consultado 8 Ene 2019] Disponible: [<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7043>]
6. CONABIO [Consultado 8 Ene 2019] Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/verbesina-crocata/fichas/ficha.htm>
7. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. [Internet] (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Capitaneja. [Consultado 8 Ene 2019] Disponible: [<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7043>]

**Vo. Bo. de los asesores**

**Francisco López Naranjo**

**Rebeca Córdova Moreno**