

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ESTUDIO DE ACTIVIDAD HIPOGLUCÉMICA, ANTIINFLAMATORIA Y  
ANTIBACTERIAL DEL EXTRACTO ACUOSO DEL CORMO DE *Psacalium*  
*paucicapitatum*

Tesis

Que presenta LOURDES CANDELARIA GARCÍA HERNÁNDEZ  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN


Saltillo, Coahuila

Julio 2016

ESTUDIO DE ACTIVIDAD HIPOGLUCÉMICA, ANTIINFLAMATORIA Y  
ANTIBACTERIAL DEL EXTRACTO ACUOSO DEL CORMO DE *Psacalium*  
*paucicapitatum*

Tesis

Elaborada por LOURDES CANDELARIA GARCÍA HERNÁNDEZ como requisito  
parcial para obtener el Grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería de  
Sistemas de Producción con la supervisión y aprobación del Comité de  
Asesoría



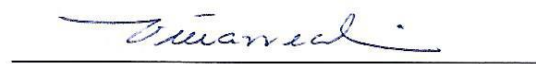
---

Dra. Diana Jasso Cantú  
Asesor principal



---

Dr. Raúl Rodríguez García  
Asesor



---

Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla  
Asesor



---

Dra. Nuria E. Rocha Guzmán  
Asesor



---

Dra. María de Lourdes V. Díaz Jiménez  
Asesor



---

Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Subdirector de Posgrado  
UAAAN

## **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco a Dios por haberme permitido cumplir una meta más, por haberme fortalecido en las etapas de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo de felicidad.

Agradezco a mis Asesores Dra. Diana Jasso Cantú, Dr. Raúl Rodríguez García, Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla, Dra. María de Lourdes Virginia Díaz Jiménez y Dra. Nuria Elizabeth Rocha Guzmán por todo el apoyo, observaciones y dedicación para la realización de esta investigación.

Agradezco también al M.C. Fidel M. Peña Ramos por su apoyo incondicional en el trayecto de la presente investigación.

Agradezco a la Dra. Martha Rocío Moreno Jiménez y Dra. Claudia I. Gamboa Gómez y a todo su equipo de trabajo por el apoyo y las facilidades brindadas durante el periodo de la Estancia de Investigación en el Instituto Tecnológico de Durango (UPIDET).

Agradezco al equipo de trabajo del Laboratorio de Fitoquímica de la UAAAN a la T.A. María Guadalupe Moreno Esquivel, T. A. Edith E. Chaires Colunga y C. Juan José Valenzuela Cabrera, por su apoyo para la realización de esta investigación.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias en Ingeniería de Sistemas de Producción.

Agradezco a aquellas personas que de alguna manera aportaron un granito de arena en mi formación académica y personal, de las cuales aprendí lo que quiero y no quiero ser.

## DEDICATORIAS

Esta tesis la Dedico con todo mi amor y cariño a mis padres, papá Mario y mamá Lulú por apoyarme en todo momento, alentándome siempre a seguir adelante, pero sobre todo por su amor, confianza y comprensión.

También Dedico esta tesis a mis hermanos María Magdalena, Jesús y José, por su apoyo y llenar mi vida de amor y alegrías.

Así también Dedico esta tesis a cada uno de mis sobrinos, mis niños hermosos John, Tania, Roberto, Kaylen, Sinaí, Leanet, Mario Jesús y Atxury Mariel, que forman parte de mi inspiración y motivación.

Dedico esta tesis a la Memoria de Roberto que se nos adelantó en el camino, voy cumpliendo una meta más, que cuando éramos niños lo veíamos como un sueño, por ti hermano querido, por siempre en mi corazón.

*“Jamás ha creado Dios ninguna enfermedad para la que al mismo tiempo no haya creado también la medicina apropiada y el remedio adecuado”.*

*Paracelso, 1527*

## INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS .....	iii
LISTA DE CUADROS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMEN .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUCCIÓN .....	1
Objetivo General .....	2
Objetivos Específicos.....	2
Hipótesis .....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Diabetes.....	4
Clasificación de la Diabetes .....	4
Diabetes Tipo 1.....	4
Diabetes Tipo 2.....	4
Diabetes gestacional.....	5
Complicaciones de la Diabetes.....	5
Enfermedad cardiovascular .....	5
Enfermedad renal (nefropatía).....	6
Enfermedad de los ojos (retinopatía).....	6
Daño en el sistema nervioso (neuropatía).....	6
Pie diabético .....	6
Mortalidad .....	7
Medicamentos que se Usan Actualmente Para el Control de la Diabetes .....	7
Modelo Experimental con Actividad Hipoglucémica.....	8
Línea Celular HT-29.....	9
Actividad Antibacterial.....	10
Especies del Género <i>Psacalium</i> .....	11
<i>Psacalium paucicapitatum</i> .....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Colecta del Material Vegetal .....	15

Preparación de la Muestra y Obtención del Extracto Acuoso .....	15
Preparación de la Infusión .....	16
Contenido Total de Polifenoles y Flavonoides por Sitio .....	16
Contenido total de fenoles (CTP).....	16
Contenido total de flavonoides (CTF) .....	16
Capacidad Antioxidante por Sitio .....	17
Análisis de Composición Química del Corno de <i>P. paucicapitatum</i> por Sitio por GC-MS.....	17
Identificación de compuestos.....	18
Análisis de Composición Fitoquímica por LC-ESI-MS <sup>2</sup> de Infusiones de <i>P. paucicapitatum</i> .....	18
Análisis Infrarrojo del Corno por Sitio.....	18
Estudio Hipoglucémico en Ratones .....	18
Animales .....	18
Tratamiento.....	19
Curva de tolerancia a la glucosa (CTG).....	20
Efecto Biológico del Extracto en Células HT-29.....	20
Material Biológico.....	20
Cultivo celular .....	20
Viabilidad Celular.....	21
Tratamientos experimentales.....	21
Citotoxicidad celular.....	21
Tratamiento.....	21
Análisis Western .....	21
Obtención de los paquetes celulares .....	21
Análisis de inmunotrasferencia de proteína pro- y anti-inflamatorio.....	22
Análisis de Actividad Antibacterial del Extracto de <i>P. paucicapitatum</i> del Sitio Rancho Texas.....	23
Material Biológico.....	23
Preparación de la solución madre del extracto .....	23
Ensayo antibacterial.....	24
Análisis Estadístico de la Prueba Antibacterial .....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	26

Peso Fresco de Cormos y Rendimiento del Extracto Acuoso por Sitio y Tamaño .....	26
Contenido Fitoquímico y Actividad Antioxidante .....	27
Composición Química de los Extractos de los Cormos de <i>P. paucicapitatum</i> por Sitio por GC-MS.....	29
Cuachirindó.....	29
Rancho Texas.....	33
Composición Química de la Infusión de <i>P. paucicapitatum</i> .....	34
Espectro FT-IR.....	37
Efecto Hipoglucémico .....	39
Efecto Hipoglucémico de <i>P. paucicapitatum</i> Sobre los Niveles de Glucosa en Ratas .....	39
Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG).....	41
Peso Corporal de los Ratones .....	42
Efecto Biológico del Extracto de <i>P. paucicapitatum</i> en Células HT-29 .....	43
Viabilidad Celular .....	43
Expresión de Proteínas Pro-inflamatorias y Anti-inflamatorias in Vitro .....	44
Efecto Antibacterial del Extracto de <i>P. paucicapitatum</i> .....	46
CONCLUSIONES .....	50
REFERENCIAS .....	51

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Cuadrados medios de peso fresco de los cormos y rendimiento del extracto acuoso de los cormos de <i>P. paucicapitatum</i> colectados en dos sitios y tres tamaños. ....	27
<b>Cuadro 2.</b> Contenido de polifenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante de cormos de <i>P. paucicapitatum</i> por sitio. ....	29
<b>Cuadro 3.</b> Compuestos identificados por GC-MS en la fracción volátil del extracto acuoso de los cormos de <i>P. paucicapitatum</i> del sitio Cuachirindó. ....	30
<b>Cuadro 4.</b> Compuestos identificados por GC- MS en la fracción volátil del extracto acuoso de los cormos de <i>P. paucicapitatum</i> del sitio Rancho Texas. ....	34
<b>Cuadro 5.</b> Datos de tiempo de retención, masas y contenido de fructooligosacáridos presentes en infusiones de <i>P. paucicapitatum</i> . ....	37
<b>Cuadro 6.</b> Bandas y asignaciones de grupos funcionales en el extracto de <i>P. paucicapitatum</i> de Cuachirindó y Rancho Texas por FTIR (ATR), análisis comparado con el espectro FTIR de <i>P. peltatum</i> . ....	38
<b>Cuadro 7.</b> Efecto modulador de la concentración de glucosa en sangre por parte de la infusión de <i>P. paucicapitatum</i> en comparación con el control obeso y control sano. ....	40
<b>Cuadro 8.</b> Valores promedio de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC / mL) y del porcentaje de inhibición (%), de las bacterias evaluadas con el extracto acuoso de <i>P. paucicapitatum</i> del sitio Rancho Texas. ....	46
<b>Cuadro 9.</b> Concentraciones MIC <sub>50</sub> y MIC <sub>90</sub> del extracto acuoso de <i>P. paucicapitatum</i> . ....	47



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología típica celular de un cultivo celular HT-29.....	10
<b>Figura 2.</b> Cormos de especies del Género <i>Psacalium</i> .....	13
<b>Figura 3.</b> <i>P. paucicapitatum</i> , planta endémica de la Sierra Norte de Oaxaca, desarrollada en invernadero a partir de semilla. ....	14
<b>Figura 4.</b> Extracto acuoso de <i>P. paucicapitatum</i> de los sitios a) Cuachirindó y b) Rancho Texas.....	15
<b>Figura 5.</b> Infusión de <i>P. paucicapitatum</i> de los sitios a) Cuachirindó y b) Rancho Texas.....	16
<b>Figura 6.</b> Ratones C57BL/6.....	19
<b>Figura 7.</b> Toma de muestra y medición de glucosa en ratones C57BL/6 .....	20
<b>Figura 8.</b> Cromatograma por GC-MS, del extracto acuoso (mediano) del sitio Cuachirindó.....	31
<b>Figura 9.</b> Espectro de masas y estructura del Ethyl iso-allocholate. ....	31
<b>Figura 10.</b> Espectro de masas y estructura del Forbol.....	31
<b>Figura 11.</b> Espectro de masas y estructura del 7,8-Epoxylnostan-11-ol, 3-acetoxy-.....	32
<b>Figura 12.</b> Espectro de masas y estructura del Oleic acid,3-(octadecyloxy)propil ester.....	32
<b>Figura 13.</b> Espectro de masas y estructura del 2-Hexadecanol.....	32
<b>Figura 14.</b> Perfil de elución por LC-ESI-MS2 de a) infusiones de <i>P. paucicapitatum</i> de la Localidad de Cuachirindó, Oaxaca, b) infusiones de <i>P. paucicapitatum</i> de Rancho Texas, Oaxaca. Compuestos identificados por tiempo de retención y MS <sup>2</sup> : <i>Kestosa</i> ; <i>Nistosa</i> y <i>Fructofuranosilnistosa</i> .....	35
<b>Figura 15.</b> Estructura química de los Fructooligosacaridos: (a) <i>kestosa</i> , (b) <i>Nistosa</i> , (c) <i>Fructofuranosilnistosa</i> .....	35
<b>Figura 16.</b> Efecto modulador de la concentración de glucosa en sangre por la infusión de <i>P. paucicapitatum</i> en comparación con el control obeso y control sano. Los datos se presentan como la media $\pm$ EE. ....	41
<b>Figura 17.</b> Curva de tolerancia a la glucosa en ratones con obesidad inducida, con dieta alta en grasa saturada y fructosa, tratadas con infusiones de <i>P. paucicapitatum</i> . Los datos se presentan como la media $\pm$ EE.....	42
<b>Figura 18.</b> Peso corporal de ratones con obesidad inducida con dieta alta en grasa saturada y fructosa, tratadas con infusiones de <i>P. paucicapitatum</i> . Los datos se presentan como la media $\pm$ EE.....	43

**Figura 19.** Efecto del extracto acuoso sobre la funcionalidad enzimática mitocondrial de células HT29 a concentraciones que no afectan pH, y estabilidad de compuestos en el sistema..... 44

**Figura 20.** Niveles diferenciales de proteínas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias en las células HT-29 tratadas con el extracto acuoso de *P. paucicapitatum*. A) inmunoblots representativo de NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , COX 2, IL 8, IL 10, COX 1, de células tratadas en suero. B) Densidad de bandas de NF-  $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , COX 2, IL 8, IL 10, COX 1, fueron semicuantificadas por imagen y expresadas como unidades arbitrarias sobre control..... 45

## RESUMEN

ESTUDIO DE ACTIVIDAD HIPOGLUCÉMICA, ANTIINFLAMATORIA Y  
ANTIBACTERIAL DEL EXTRACTO ACUOSO DEL CORMO DE *Psacalium*  
*paucicapitatum*

POR

LOURDES CANDELARIA GARCÍA HERNÁNDEZ

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DRA. DIANA JASSO CANTÚ – ASESOR

Saltillo, Coahuila

Julio 2016

*Psacalium paucicapitatum* (camote de venado), es una planta endémica de México que crece silvestre en la Sierra Norte de Oaxaca, los cormos de esta planta son utilizados para aliviar los malestares ocasionados por úlceras gástricas, diabetes, hipertensión, dolores musculares y para cicatrizar heridas. Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue estudiar las actividades hipoglucémicas, anti-inflamatoria y antibacterial del extracto acuoso del cormo de *P. paucicapitatum*. Se evaluó la actividad hipoglucémica en ratones C57BL/6 durante 14 semanas, para la actividad anti-inflamatoria se determinó la proteína celular obtenida del cultivo en células HT-29 utilizando el Kit de Bio-Rad Bradford. En cuanto a la actividad antibacterial se evaluaron concentraciones de 125 a 3500 ppm contra seis bacterias: *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus hauseri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, y *Staphylococcus epidermidis*. El estudio de composición química se efectuó por GC-MS y LC-ESI-MS<sup>2</sup>. Los resultados mostraron que los extractos de *P. paucicapitatum*, presentaron actividad hipoglucémica, anti-inflamatoria y antibacterial, además se identificaron diferentes compuestos bioactivos en el extracto, lo cual representa una alternativa para la medicina tradicional. Este es el primer reporte científico de actividad biológica y composición química de los cormos de *P. paucicapitatum*.

**Palabras clave:** *P. paucicapitatum*, actividad hipoglucémica, actividad anti-inflamatoria, actividad antibacterial, composición química.

**ABSTRACT**

STUDY HYPOGLYCEMIC ACTIVITY, ANTI-INFLAMMATORY AND  
ANTIBACTERIAL CORM AQUEOUS EXTRACT OF *Psacalium paucicapitatum*

BY

LOURDES CANDELARIA GARCÍA HERNÁNDEZ

MASTER OF SCIENCE IN ENGINEERING OF PRODUCTION SYSTEMS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

PhD. DRA. DIANA JASSO CANTÚ – ADVISOR

Saltillo, Coahuila

July 2016

*Psacalium paucicapitatum* (camote deer), is an endemic plant Mexico which grows wild in the Sierra Norte of Oaxaca, corms of this plant are used for relieving the discomforts caused by gastric ulcers, diabetes, hypertension, muscle aches and wound healing. For the above the objectives of this study was to study the antibacterial hypoglycemic activity, anti-inflammatory and aqueous extract of *P. paucicapitatum* corm. hypoglycemic activity in C57BL/6 mice for 14 weeks, for the anti-inflammatory activity was evaluated cellular protein obtained from the culture in HT-29 cells using the Bio-Rad Bradford kit was determined by. *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus hauseri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus epidermidis*: As for the antibacterial activity concentrations of 125-3500 ppm against six bacteria were evaluated. The study was conducted chemical composition by GC-MS and LC-ESI-MS<sup>2</sup>. The results showed that extracts of *P. paucicapitatum* presented hypoglycemic activity, anti-inflammatory and antibacterial, in addition to different bioactive compounds in the extract were identified, which represents an alternative to traditional medicine. This is the first scientific report of biological activity and chemical composition of *P. paucicapitatum* corms.

**Keywords:** *P. paucicapitatum*, hypoglycemic activity, anti-inflammatory activity, Antibacterial Activity, Chemical Composition

## INTRODUCCIÓN

Actualmente 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, 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 para aliviar los malestares provocados por la diabetes (Akhtar y Ali, 1985; Lozoya, 1987). En México 7 de cada 10 personas mayores de 18 años viven con sobrepeso u obesidad la cual ha sido directamente vinculada con 14 tipos de enfermedades, incluyendo la diabetes tipo 2, cáncer, enfermedades cardiovasculares, etc. (OMS, 2016). En la mayoría de los trabajos realizados con plantas antidiabéticas se hace notoria la necesidad de estudios fitoquímicos, ya que algunas de ellas se utilizan para combatir los síntomas principales de la diabetes mellitus, mientras que otras se usan para aliviar las complicaciones crónicas del padecimiento. (Alarcón, 1997; Hernández-Galicia et al., 2002).

Por otra parte la inflamación es la reacción del organismo de muchas enfermedades caracterizada por la presencia de dolor, hinchazón, enrojecimiento y calentamiento en la zona afectada, característica común que se ha implicado en la patología fisiología de muchas enfermedades asociadas con la obesidad, puede activarse en un contexto metabólico alterado, siendo un factor confluente en distintas enfermedades aparentemente no relacionadas, como la obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis, cáncer y la enfermedad de Alzheimer, entre otras (Sun et al., 2012; Gamboa-Gómez et al., 2015).

A nivel mundial aparecen y se propagan nuevos mecanismos de resistencia a las bacterias que desafían la capacidad para tratar las enfermedades infecciosas habituales causando muertes y discapacidades. Con frecuencia, las infecciones originadas por microorganismos resistentes no responden al tratamiento ordinario, lo que da lugar a una enfermedad prolongada y a mayor riesgo de defunción (OMS, 2015). Las especies vegetales se han convertido en

una fuente importante de nuevos fármacos, ya que tienen una creciente demanda por sus componentes bioactivos, que conduce a que muchos productos naturales sean reconocidos como fitofármacos (Vivot et al., 2012).

*Psacalium paucicapitatum* (camote de venado), es una planta endémica de México que crece silvestre en el municipio de Ixtlán de Juárez, en la Sierra Norte de Oaxaca. Los pobladores de la región han consumido los cormos de esta planta, para aliviar los malestares ocasionados por úlceras gástricas, diabetes, hipertensión, dolores musculares y para cicatrizar heridas, con excelentes resultados, sin embargo, los reportes científicos sobre la composición química y confirmación científica de la actividad hipoglucémica y anti-inflamatoria de esta planta son escasos.

### **Objetivo General**

Estudiar la actividad hipoglucémica, anti-inflamatoria y antibacteriana del extracto acuoso del corno de *P. paucicapitatum*.

### **Objetivos Específicos**

- Determinar la actividad hipoglucémica de la infusión de *P. paucicapitatum* en ratones C57BL.
- Evaluar la actividad anti-inflamatoria del extracto en células HT-29.
- Estudiar la actividad antibacteriana del extracto contra seis cepas bacterianas: *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus hauseri* (ATCC 13315), *Proteus mirabilis* (ATCC 7002), *Proteus vulgaris* (ATCC 49132), y *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228).
- Evaluar la composición química del extracto acuoso e infusión de los cormos de *P. paucicapitatum*.
- Determinar la actividad antioxidante, contenido total de fenoles y flavonoides del extracto e infusión de *P. paucicapitatum*.



## **Hipótesis**

El extracto acuoso de la planta camote de venado (*P. paucicapitatum*) contiene metabolitos secundarios con actividad hipoglucemiante, anti-inflamatoria y antibacterial, por lo que es utilizada como medicamento tradicional

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica que se produce cuando el páncreas no produce suficiente insulina, o cuando el cuerpo no puede utilizar eficazmente la insulina que produce. La resistencia a la insulina se define como la menor sensibilidad a la insulina por las células y alteraciones de glucosa en el metabolismo (absorción o almacenamiento). En los pacientes con diabetes tipo 2, en personas con obesidad, una disminución de la insulina estimula el transporte de glucosa, en particular la resistencia a la insulina es el resultado de la compleja interacción entre el músculo, células pancreáticas (Beta), tejido adiposo y el hígado (Reaven., 1995). Paracelso en 1527 abolió los polifármacos y simplificó los medicamentos con minerales y plantas. Fue el primero en asegurar que ciertos venenos, en pequeñas dosis pueden convertirse en un buen medicamento, afirmó que la diabetes se debía a una enfermedad de la sangre. (Contreras et al., 2005)

#### Clasificación de la Diabetes

**Diabetes Tipo 1.** También llamada insulino dependiente, juvenil o de inicio en la infancia, se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere la administración diaria de esta hormona. Sus síntomas consisten entre otros, en excreción excesiva de orina (poliuria), sed (polidipsia), hambre constante (polifagia), pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio. Estos síntomas pueden aparecer de forma súbita.

**Diabetes Tipo 2.** También llamada no insulino dependiente o de inicio en la edad adulta se debe a una utilización ineficaz de la insulina. Este tipo representa el 90% de los casos mundiales (OMS, 1999) y se debe en gran medida a un peso corporal excesivo y a la inactividad física. Los síntomas pueden ser similares a los de la diabetes tipo 1, pero a menudo menos intensos. En consecuencia, la enfermedad puede diagnosticarse solo cuando ya tiene varios años de evolución y han aparecido complicaciones. Hasta hace

poco, este tipo de diabetes solo se observaba en adultos, pero en la actualidad también se está manifestando en niños.

**Diabetes gestacional.** La diabetes gestacional se caracteriza por hiperglucemia (aumento del azúcar en la sangre), que aparece durante el embarazo y alcanza valores que pese a ser superiores a los normales, son inferiores a los establecidos para diagnosticar una diabetes. Las mujeres con diabetes gestacional corren mayor riesgo de sufrir complicaciones durante el embarazo y el parto, y de padecer diabetes de tipo 2 en el futuro (OMS, 1999).

### **Complicaciones de la Diabetes**

Según los expertos de la Federación Internacional de Diabetes (FID). La esperanza de vida media para sujetos con Diabetes Mellitus (DM), es al menos de 10 años más corta que la de la mortalidad cardiovascular (CV). Las complicaciones CV por aterosclerosis son la primera causa de mortalidad en pacientes diabéticos, principalmente la enfermedad coronaria. Además de ello la DM es la primera causa de insuficiencia renal terminal, de ceguera adquirida y de amputación no traumática de los miembros inferiores (Sabán et al. 2012). En los pacientes con diabetes el riesgo de muerte es al menos dos veces mayor que en las personas sin diabetes (Roglic., 2005).

**Enfermedad cardiovascular.** es la causa más común de muerte y discapacidad entre las personas con diabetes. Algunas de las enfermedades cardiovasculares que acompañan a la diabetes son la angina de pecho, el infarto de miocardio (ataque al corazón), la enfermedad arterial periférica y la insuficiencia cardíaca congestiva. En las personas con diabetes, la presión arterial alta, el colesterol alto, la alta glucosa en sangre y otros factores de riesgo contribuyen al aumento del riesgo de complicaciones cardiovasculares (FID., 2013). La diabetes aumenta el riesgo de cardiopatía y accidente vascular cerebral (AVC). Según un estudio realizado en varios países, un 50% de los pacientes diabéticos muere de enfermedad cardiovascular (principalmente cardiopatía y AVC, (Morrish et al., 2001).

**Enfermedad renal (nefropatía).** Es mucho más común en personas con diabetes que en las personas sin diabetes, la diabetes es una de las principales causas de enfermedad renal crónica. Esta enfermedad es causada por el daño a los pequeños vasos sanguíneos, que puede provocar que los riñones sean menos eficientes, o que fallen por completo (FID., 2013).

**Enfermedad de los ojos (retinopatía).** Muchas personas con diabetes desarrollan algún tipo de enfermedad de los ojos, que puede dañar la visión o provocar ceguera. La persistencia de altos niveles de glucosa en sangre, junto con la presión arterial alta y el colesterol alto, son la principal causa de retinopatía. La red de vasos sanguíneos que irrigan la retina puede bloquearse y dañarse en retinopatía, lo que lleva a la pérdida permanente de la visión. La retinopatía se puede tratar a través de controles regulares de los ojos y manteniendo unos niveles normales de glucosa (FID., 2013). El 1% de los casos mundiales de ceguera es consecuencia de la diabetes. (Global status report on noncommunicable diseases, 2014).

**Daño en el sistema nervioso (neuropatía).** Cuando la glucosa en sangre y la presión arterial son demasiado elevadas, la diabetes puede provocar daño en el sistema nervioso de todo el cuerpo. Pueden producirse problemas con la digestión y la orina y disfunción eréctil, además de otras funciones, pero las zonas más comúnmente afectadas son las extremidades, particularmente los pies. Los daños en los nervios de estas zonas se llama neuropatía periférica, y puede conducir al dolor, hormigueo y pérdida de sensibilidad. La pérdida de sensibilidad es particularmente importante, ya que puede permitir que las lesiones pasen desapercibidas, dando lugar a infecciones graves y úlceras, enfermedad del pie diabético y amputaciones mayores (FID., 2013).

**Pie diabético.** Las personas con diabetes pueden desarrollar una serie de problemas en los pies como consecuencia de los daños en los nervios y los vasos sanguíneos. Estos problemas pueden conducir fácilmente a la infección y ulceración, lo que aumenta el riesgo de amputación. Las personas con diabetes

que se enfrentan a un riesgo de amputación puede ser más de 25 veces superior al de personas sin diabetes (Malek et al., 2012).

### **Mortalidad**

Estadísticas del Inegí en el 2013, indica que la diabetes mellitus ocupa el tercer lugar de muertes con 89,420 defunciones por esta enfermedad. En el 2014 la prevalencia mundial de la diabetes fue del 9% entre los adultos mayores de 18 años, ya que 422 millones de adultos en todo el mundo tenían diabetes. En el 2012 fallecieron 1,5 millones de personas como consecuencia directa de esta enfermedad, más del 80% de las muertes por diabetes se registra en países de ingresos bajos y medios, además el porcentaje de muertes es atribuible a una glucemia elevada o la diabetes en menores de 70 años de edad es superior en los países de ingresos bajos y medianos que en los de ingresos altos (OMS 2015, 2016). Según proyecciones de la OMS, 2016, la diabetes será la séptima causa de mortalidad para el 2030.

### **Medicamentos que se Usan Actualmente Para el Control de la Diabetes**

Actualmente existen muchos fármacos para el control de la diabetes, en el caso de la diabetes tipo 1 se usa la insulina y para la diabetes tipo 2 son más usados las Biguanidas, Sulfonilureas y Meglitinidas por ejemplo:

La metformina es un antidiabético oral de la familia de las biguanidas que se utiliza ampliamente en el tratamiento de pacientes con diabetes de tipo 2, funciona impidiendo que el hígado produzca glucosa y ayudando a que más glucosa entre en las células. Sus principales efectos secundarios son alteraciones inespecíficas gastrointestinales (10–30%) (Olivera-González et al., 2010). La glibenclamida es una sulfonilurea que tiene un efecto hipoglucemiante agudo, ya que actúa sobre las células  $\beta$  del páncreas estimulando la secreción de insulina. Asimismo, presenta actividad hipoglucemiante crónica debido a la potenciación de la acción de esta hormona, a través de un aumento en el número de sus receptores (Lane et al., 1997; Satoh et al., 2005).

Prandin E Starlix es una meglitinida que constituye un grupo de fármacos para el tratamiento de la diabetes tipo 2, en pacientes no obesos, con utilidad en el control de la glicemia postprandial. De este grupo están disponibles en el mercado la Repaglinida y la Nateglinida, aprobados para monoterapia o asociado a metformina. Actúan estimulando la secreción de insulina por parte de la célula beta pancreática (secretagogos) en respuesta a las comidas, mediante la activación de un receptor disminuyen la glicemia postprandial (Socorro et al., 2003; Tamez et al., 2003).

### **Modelo Experimental con Actividad Hipoglucémica**

Muchos modelos en animales actualmente han sido utilizados para investigar la eficacia, modo de acción y efectos colaterales de las plantas antidiabéticas y sus principios activos. Por lo tanto, diferentes modelos en animales han sido desarrollados, cada uno con algunas de las características que son observadas con los enfermos con diabetes (Bailey y Flatt, 1990).

Los modelos animales más utilizados son roedores, por ser económicos con respecto a los mamíferos superiores y, generalmente con valores de glucemia similares a los del ser humano en ayuno (60-100mg/dL), además de que son más susceptibles de adquirir DM en corto tiempo (Soumyanath et al., 2016).

La cepa *C57BLACK6*, abreviada como *C57BL/6* o *black 6*, es la cepa endogámica de ratón de laboratorio más ampliamente usada para ser manipulada genéticamente en el estudio de las enfermedades humanas.

Su pelaje es café oscuro, casi negro. Tiene un temperamento fácilmente irritable se caracterizan por las alopecias que presentan a temprana edad, ubicadas principalmente en el dorso, cuello y flancos, cuya etiología no ha sido bien definida.

### **Proceso Inflamatorio**

Recientemente se ha reportado que la inflamación puede activarse en un contexto metabólico alterado (niveles elevados de glucosa, exceso de lípidos, cristales de colesterol), siendo un factor confluente en distintas enfermedades

aparentemente no relacionadas, como gota, obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis, cáncer y la enfermedad de Alzheimer, entre otras (Sun et al., 2012). La glucosa es pro-inflamatoria y aumenta los niveles de marcadores inflamatorios de fase aguda que se asocian con la resistencia a la insulina y síndrome metabólico, lo que lleva a un papel para la inflamación crónica de bajo grado en Diabetes Tipo 2 (Alarcón-Aguilar et al., 2010).

La inflamación según su duración se divide en aguda y crónica. La aguda es de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos. La inflamación crónica dura semanas meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo.

El tratamiento de los pacientes con inflamación incluye dos objetivos principales: primero el alivio del dolor que con frecuencia constituye el síntoma de presentación y la principal queja continua del enfermo y segundo, la disminución del proceso lesivo tisular, la reducción de la inflamación con anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) a menudo genera alivio del dolor durante periodos significativos, además la mayor parte de los analgésicos no opioides, tales como la aspirina, también tiene efectos antiinflamatorios, por lo cual son apropiados para tratar padecimientos inflamatorios, tanto agudos como crónicos, por lo cual los antiinflamatorios no esteroideos han adquirido una función principal en el tratamiento de patologías con procesos inflamatorios (Furst y Caldwell, 2002).

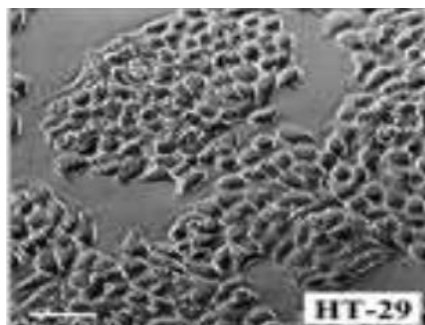
### **Línea Celular HT-29**

Las líneas celulares derivadas de cáncer colorrectal han proporcionado una herramienta muy útil para el estudio de genes reguladores de la diferenciación intestinal y su implicación en el cáncer, en gran parte es debido a la dificultad de obtener cultivos primarios a partir de células epiteliales normales de intestino.

Se conocen dos formas fundamentales de cáncer colorrectal: esporádico y hereditario. La mayoría de tumores colorrectales están considerados como tumores esporádicos, lo cual demuestra que existe un riesgo ambiental muy elevado que incide directamente sobre el desarrollo de este tipo de cáncer (Potter, 1999).

La línea celular HT-29 fue establecida en 1975, derivada de células de adenocarcinoma de colon humano (Fogh, 1975). A nivel morfológico, los cultivos de esta línea celular son heterogéneas y contienen subpoblaciones de células con diversa capacidad de diferenciación (Fig. 1).

A nivel cinético, estas células activan espontáneamente, durante el crecimiento a postconfluencia, un programa de diferenciación caracterizado por el establecimiento de contactos de adhesión, la formación de una monocapa de células mucosecretoras polarizadas, con un núcleo basal, numerosas vacuolas de moco acumuladas en el citoplasma de la región apical de las células y algunas microvellosidades apicales que no llegan a formar un borde en cepillo maduro (Lesuffleur et al., 1990).



**Figura 1.** Morfología típica celular de un cultivo celular HT-29

### **Actividad Antibacterial**

En México en el año 2010 la infección de vías urinarias (IVU) ocupó el tercer lugar en morbilidad, afectando principalmente a pacientes en edad pediátrica, aunque también a los adultos y de manera particular a las mujeres embarazadas que requieren de tratamientos especiales por los riesgos perinatales que la IVU necesita (SINAVE/DGE/SALUD, 2009; Calderón-Jaimes et al., 2013). Las bacterias que producen las IVU son generalmente Gram-



negativas de origen intestinal: *Escherichia coli* causa de 75 a 95% de las infecciones, el resto es producido por *Klebsiella* sp, *Proteus* sp. y *Enterobacter* sp. Además, entre las bacterias Gram-positivas que también causan IVU se encuentran: *Enterococos*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Streptococcus agalactiae*, entre otras (Gupta et al., 2010; Calderón-Jaimes et al., 2013).

Para el control de estas infecciones los médicos han prescrito altas concentraciones de antibióticos y en algunas ocasiones la infección en el paciente no se controla, por lo que las bacterias infecciosas crean resistencia a los antibióticos. Lo anterior ha ocasionado un grave problema clínico debido a la posible presencia de bacterias resistentes a múltiples fármacos, por sus siglas en inglés (MDR) (Mishra et al., 2015).

Actualmente existe la urgente necesidad de desarrollar nuevas alternativas de control de bacterias resistentes a los antibióticos, y la búsqueda se ha enfocado en los metabolitos secundarios de las plantas que tradicionalmente se han utilizado para remediar los males ocasionados por las bacterias (Ramírez-Rueda y Mojica-Ávila, 2014).

### **Especies del Género *Psacalium***

Las plantas del género *Psacalium* (Familia Asteraceae, Tribu Senecioneae) han sido utilizadas como medicina tradicional por los indios Yaquis, Seris y Raramuris (Tarahumaras) que habitan en el norte y noroeste de México, así como por los pobladores del medio rural en México, para aliviar los malestares de infecciones gastrointestinales, de problemas hepáticos y renales ocasionados por la diabetes, así como para dolores musculares (Barkley et al., 1996; Heinrich., 1996). Matarique es el nombre común para un grupo complejo de 5 especies de la familia Asteraceae (*P. decompositum*, *P. peltatum*, *P. sinuatum*, *Psacalium* sp., y *Acourtia thurberi*) (Fig. 2), el té del Matarique es un remedio popular usado para el control de la diabetes, para las dolencias renales, la malaria y la fiebre. Esta infusión del "Matarique" también se utiliza como antiséptico para realizar lavados de heridas (Linares y Bye, 1987).

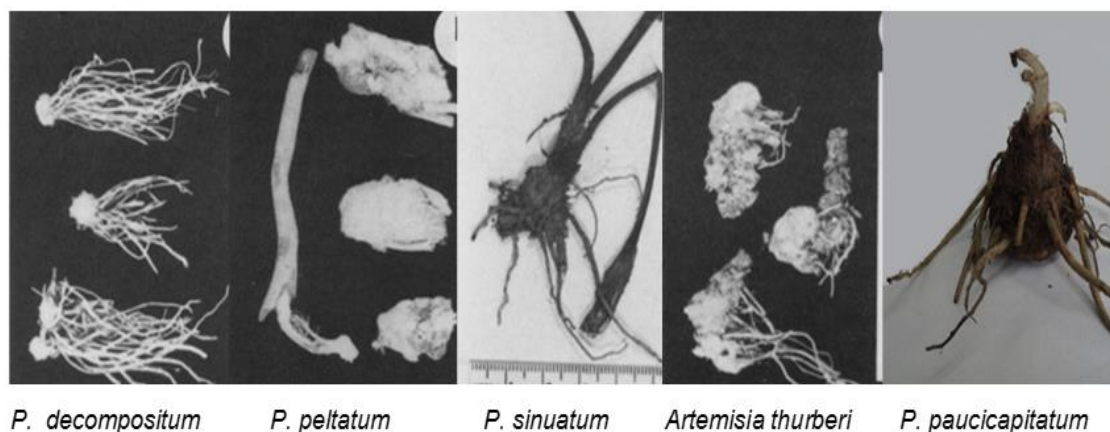
Las especies del genero *Psacalium* que han sido más estudiadas reportaron actividad hipoglucémica, anti-inflamatoria y antimicrobial como es el caso de:

1) *P. decompositum*.- en la decocción de la raíz, similar a la forma común utilizada en la medicina tradicional (4mL/kg de peso corporal), mostró actividad hipoglucemiante en ratones adultos (CDI-strain), así como en conejos adultos machos (New Zealand) reportando al cacalol, cacalone, maturine, alcaloides y azucares como los principales compuestos de esta especie (Alarcón-Aguilar et al., 1997). Inman et al. (1999) reportaron actividad hipoglucémica en un estudio antihiper glucémico en un modelo de ratones (C57BL-6J) para diabetes Tipo 2. Merino-Aguilar et al. (2014) encontraron en la fracción de fructooligosacáridos obtenidos de la raíz de *P. decompositum* resistencia a la insulina, efecto anti-inflamatorio, disminución de peso corporal, la producción de triglicéridos y colesterol en la obesidad inducida por la fructosa en ratas Wistar. Esta especie mostró actividad antibacterial contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*, lo cual se atribuye al cacalol aislado de la planta (Jiménez et al., 1992). Además, Anaya et al. (1996) reportaron que el extracto acuoso de las raíces de esta planta mostró inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos. En el extracto de hexano de la raíz se identificaron más de 10 compuestos sesquiterpenoides, de los cuales cacalol, cacalona, maturina, maturinona y maturona fueron los más abundantes (Romo y Joseph, 1964; Correa y Romo, 1966).

2) *P. peltatum*.- el extracto acuoso mostró actividad hipoglucemiante en ratones adultos (CDI-strain), como en conejos adultos machos (New Zealand) (Alarcón- Aguilar et al., 1997). La fracción-Ap obtenido de *P. peltatum* mostró actividad hipoglucemiante y alto contenido de fructanos, los cuales presentaron efectos anti-inflamatorios y antioxidantes en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina (Alarcón-Aguilar et al., 2010). Los aceites esenciales de esta planta promovieron la actividad antiséptica contra microorganismos Gram-positivo y Gram-negativo, así como contra hongos (Kuklinski, 2000). De la raíz de esta planta se aislaron e identificaron: alcaloides, aceites esenciales,

resinas, taninos y glucósidos. Estos compuestos mostraron propiedades, cicatrizante, antiinflamatoria y antihemorrágica (Argueta et al.,1994).

3) *P. radulifolium*.- del extracto de hexano de las raíces se aislaron e identificaron: cacalol, O-methyl-1,2-dehydrocacalol ether (Syn: cacalohastin), adenostin A., decompostin, neoadenostylone, a 1:1 mixture of cacalone and *epi*-cacalone. Estos compuestos mostraron actividad antimicrobial contra *Spahylococcus aureus* y *Candida albicans*. Además, reportaron 4 nuevas sustancias: radulifolin A., *epi*-radulifolin A, radulifolin B, y radulifolin C (Garduño et al., 2001; Garduño y Delgado, 2003).



**Figura 2.** Cormos de especies del Género *Psacalium*

(Romo y Joseph, 1964; Correa y Romo, 1966; Linares y Bye, 1987; Burgueño et al., 2006, 2008; Romo de Vivar et al.,2007).

### ***Psacalium paucicapitatum***

*P. paucicapitatum* (camote de venado), es una planta endémica de México que crece silvestre (Fig. 3) en el municipio de Ixtlán de Juárez, en la Sierra Norte de Oaxaca, en elevaciones de 1821 a 2802 msnm. Fue descrita por Robinson y Greenman en 1895 como *Cacalia pseudocapitata*, posteriormente fue reubicada en el género *Psacalium* por Robinson and Brettell en 1973 (Tropicos, 2013). Los pobladores de la región han consumido los cormos de esta planta, para aliviar los malestares ocasionados por úlceras gástricas, diabetes, hipertensión, dolores musculares y para cicatrizar heridas, con excelentes resultados. Los reportes científicos sobre la composición química de esta planta son escasos.

Burgueño-Tapia et al, (2006); Burgueño-Tapia y Joseph-Nathan, (2008) identificaron en los cormos de *P. paucicapitatum* la presencia de eremophilanolides y furanoeremophilanes



**Figura 3.** *P. paucicapitatum*, planta endémica de la Sierra Norte de Oaxaca, desarrollada en invernadero a partir de semilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

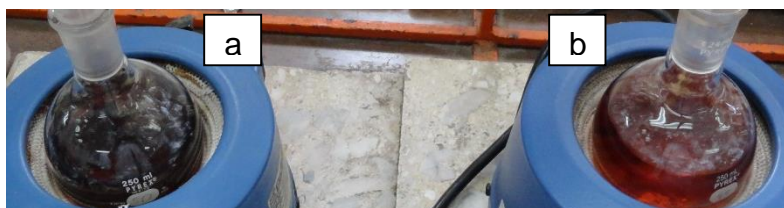
### Colecta del Material Vegetal

Los cormos de las plantas de *P. paucicapitatum* fueron colectados en dos sitios silvestres denominados Cuachirindoó (17°20'32.82" N y 96°29'11.63" W, a 2242 msnm), y Rancho Texas (17°19'16.55" N y 96°27'56.81" W, a 2192 msnm), en el municipio de Ixtlán de Juárez en la Sierra Norte de Oaxaca, en el mes de agosto del 2013. Los cormos (2.4 kg por sitio) se colectaron al azar y se colocaron en bolsas de papel para ser transportados al Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México.

### Preparación de la Muestra y Obtención del Extracto Acuoso

Los cormos de cada sitio se dividieron en dos grupos (G1 y G2), enseguida se lavaron con agua destilada para quitar la tierra y las raíces fueron separadas, el exceso de agua se eliminó con papel secante.

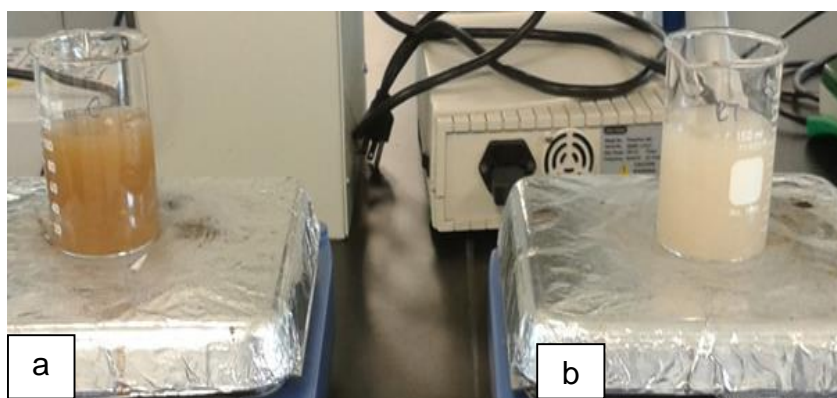
Los cormos del G1 por sitio, se separaron por tamaño chico, mediano y grande, enseguida se pesaron en balanza electrónica de precisión Mettler, y se trozaron en pequeños pedazos de 5mm de diámetro. A continuación, se secaron en una estufa MAPSA a 55°C durante 24 horas y se procedió a obtener el extracto acuoso en el extractor soxhlet durante 72 horas, utilizando la metodología descrita por Jasso de Rodríguez et al. (2015). Los cormos del G2 por sitio, se pesaron y se trozaron en pequeños pedazos de 5mm de diámetro, la muestra se homogenizó y se procedió a obtener los extractos acuosos por sitio en extractor soxhlet, con la metodología mencionada anteriormente.



**Figura 4.** Extracto acuoso de *P. paucicapitatum* de los sitios a) Cuachirindoó y b) Rancho Texas

### Preparación de la Infusión

Los cormos se liofilizaron y maceraron, se tomaron 3g de la muestra y se disolvieron en 300 ml de agua en agitación constante y se llevaron a 80 °C por 10 minutos. La infusión se filtró en un filtro de tamaño de poro de 0.5 mm, que se almacenó a -84 °C (Revco CxF ultra-low-temperature freezer, Asheville, NC).



**Figura 5.** Infusión de *P. paucicapitatum* de los sitios a) Cuachirindó y b) Rancho Texas.

### Contenido Total de Polifenoles y Flavonoides por Sitio

#### Contenido total de fenoles (CTP)

El contenido total de fenoles del extracto acuoso se determinó siguiendo el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Ainsworth y Gillespie, (2007), usando ácido gálico (AG) como estándar de referencia. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de AG por gramo de corno seco (mg EAG/g de muestra seca). El CTP se estimó a partir de la absorbancia de la mezcla a 750 nm. El análisis para cada una de las muestras se llevó a cabo por triplicado.

#### Contenido total de flavonoides (CTF)

El contenido total de flavonoides del extracto acuoso se determinó usando el método colorimétrico descrito por Heimler et al. (2005), usando catequina como

estándar de referencia, los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina (mg EC/g de muestra seca). El contenido de flavonoides se determinó a partir de la absorbancia de la mezcla a 570 nm. El análisis para cada una de las muestras se llevó a cabo por triplicado.

### **Capacidad Antioxidante por Sitio**

La capacidad antioxidante se midió por el método de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, por sus siglas en inglés DPPH<sup>•</sup> (Brand-Williams et al., 1995), con algunas modificaciones (Manzocco et al., 1998). Una curva de calibración a 515 nm (UV/Vis Espectrofotómetro Varían, Cary 50, Varían, Palo Alto, CA, USA) fue usada para identificar la concentración en la reacción mediante (0–1000 µg/mL). Un volumen de 2.9 mL of DPPH<sup>•</sup> en metanol fue usado. La reacción fue parada por la adición de 100 µL del extracto e infusión cada 5 min. La eficiencia del anti radical fue calculada de acuerdo a la siguiente formula

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = \frac{[\text{DPPH}^{\bullet}]_T}{[\text{DPPH}^{\bullet}]_{T=0}}$$

donde  $[\text{DPPH}^{\bullet}]_T$  es la concentración de DPPH<sup>•</sup> en estado de equilibrio  $[\text{DPPH}^{\bullet}]_{T=0}$  concentración inicial.

### **Análisis de Composición Química del Cormo de *P. paucicapitatum* por Sitio por GC-MS.**

Se llevaron a cabo los análisis de composición química de los extractos acuosos de los cormos tamaño mediano y grande de los sitios Cuachirindó y Rancho Texas. Análisis por Cromatografía de Gases y espectrofotometría de Masas, por sus siglas en inglés (GC–MS) fueron corridos en el equipo Agilent Technologies del Laboratorio de Revaloración de Residuos del Cinvestav, Saltillo usando las siguientes condiciones: columna HP-5MS (30m x 0.25 mm 1D X 0.25µ). Para la detección se utilizó un sistema de ionización de energía de 70 eV como gas portador, se usó un flujo constante a 1.1 mL/min y un volumen de inyección de 1 µL, la temperatura de inyección fue de 250 °C. El programa del calentamiento de horno fue isotérmico durante 5 min a 60 °C seguido por un

calentamiento de 5°C/min hasta 100 °C/min (2 min), y 10 °C/min hasta 250 °C/min (5 min).

### **Identificación de compuestos.**

La identificación de los compuestos se realizó por comparación con espectros de compuestos puros de la biblioteca NIST (National Institute of Standard and Technology).

### **Análisis de Composición Fitoquímica por LC-ESI-MS<sup>2</sup> de Infusiones de *P. paucicapitatum*.**

A partir de infusiones al 1% (w/v) a 80°C se tomó una muestra de 1 mL y se pasó por un micro filtro de tamaño de poro de 0.45µm y se colocó en un vial etiquetado adecuadamente, para ser inyectado por Cromatografía de líquidos-Electrospray-Espectometría de masas, por sus siglas en inglés (LC-ESI-MS<sup>2</sup>) hacia el estudio de fructooligosacáridos. Se utilizó el método descrito por Moreno Jiménez et al. (2015).

### **Análisis Infrarrojo del Corno por Sitio**

Los extractos acuosos del corno de *P. paucicapitatum* de Cuachirindó y Rancho Texas no requirieron ningún tratamiento especial para los análisis de FTIR. La muestra se analizó directamente en un espectrofotómetro Perkin Elmer FTIR, utilizando un dispositivo de ATR con punta de diamante, modelo GX00 a temperatura ambiente en un rango de 600–4000 cm<sup>-1</sup> y 32 barridos por espectro.

### **Estudio Hipoglucémico en Ratones**

#### **Animales**

Se utilizaron 24 ratones hembras de 18± 2g de peso corporal cepa C57BL/6 adquiridos en RISMART S.A. Los animales se alojaron en un Biotério a temperatura de 22-24°C con fotoperiodos de 12 horas y con libre acceso al alimento y agua ad libitum. Se realizó la limpieza de cama cada 4 días con



aserrín estéril (Fig. 6). Los ratones se dividieron en 3 grupos de 8 ratones (Control sano, Obeso y control obeso+Camote de venado).

El control sano se alimentó con una dieta estándar (Rodent Laboratory Chow), en el caso del control obeso y control obeso+Camote de venado, se alimentaron con una dieta rica en grasa saturada y fructosa constituida por Proteínas: 10.18%; Grasas: 55.63% y Carbohidratos: 34.18%. Se realizaron mediciones de consumo de alimento y agua de manera diaria.



**Figura 6.** Ratones C57BL/6

### **Tratamiento**

Se administró una determinada dosis de infusión del corno de *P. paucicapitatum* para lo cual se utilizó la fórmula reportada por Reagan-Shaw 2008 para obtener así la dosis equivalente determinado por la fórmula siguiente.

$$HED \left( \frac{mg}{kg} \right) multiplied\ by = \frac{Animal\ Km}{Human\ Km}$$

El tratamiento (200µL), se aplicó vía intragástrica con cánula utilizando aceite de maíz como lubricante, el cual se aplicó diariamente durante 14 semanas. La glucemia se determinó con tiras reactivas Glucometer (Accu-Check® Performa, Roche), a partir de muestras de sangre obtenidas por el corte transversal de la cola de los ratones cada mes, en ayuno previo de 12 horas.

### **Curva de tolerancia a la glucosa (CTG).**

Se realizó a la semana 13 del tratamiento, mediante vía intragástrica (cánula) de 1mg de glucosa/g de peso corporal en 1 ml de agua; previa medición de los niveles basales de glucosa sanguínea. Posterior a la administración de la dextrosa, se realizaron mediciones de las concentraciones de glucosa sanguínea, a los 0, 30, 60 y 120 minutos usando un glucometer (Accu-Check® Performa, Roche) (Fig.7) (Takahashi et al., 1999).



**Figura 7.** Toma de muestra y medición de glucosa en ratones C57BL/6

### **Efecto Biológico del Extracto en Células HT-29**

#### **Material Biológico**

Las células HT-29 (adenocarcinoma colorrectal) se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC número HTB-38TM; Manassas, Virginia, EE.UU), el experimento se realizó en el Instituto Tecnológico de Durango (UPIDET).

#### **Cultivo celular**

Células humanas HT-29 se cultivaron de forma rutinaria en Dulbecco's Modified Eagle's médium, por sus siglas en inglés (DMEM) con 10% de suero bovino fetal (SBF) y una mezcla de antibióticos. La incubación se llevó a 37°C en un ambiente de atmósfera humidificada con 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de aire.

### **Viabilidad Celular.**

La viabilidad celular se evaluó por el método de MTT (Bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazólico) (Van Meerloo et al., 2011). Las células fueron sembradas en placas de 96 pocillos a una densidad de  $9,3 \times 10^6$  células por pocillo en 200  $\mu$ L de DMEM con FBS y antibióticos. Después de los tratamientos experimentales, las células se lavaron a fondo con PBS 1X (dos lavados). A continuación, se añadieron 100  $\mu$ L de PBS 1X a cada pozo y se agregaron 100  $\mu$ L de RPMI con antibiótico SIN rojo fenol, Se agregaron 100  $\mu$ L de MTT y se incubaron las células durante 4 h. El MTT reducido por las células viables a formazan se solubilizó con 200  $\mu$ L de DMSO y la absorbancia se midió en una prueba (570 nm) y longitudes de onda de referencia (690 nm) utilizando un lector de micro placas (Daigger, BioTek Instruments, Inc.).

### **Tratamientos experimentales**

**Citotoxicidad celular.** Concentraciones (0.01, 0.025, 0.05, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1 mg/mL) de los extractos de *P. paucicapitatum* se prepararon en medio DMEM. Los medios de cultivo se evaluaron en función del pH y la precipitación de los componentes con y sin suero a fin de evitar posibles efectos citotóxicos, debido a los cambios en estos factores fisicoquímicos en el microambiente celular. Sólo se seleccionaron las concentraciones que no cambiaron las condiciones del medio de cultivo.

**Tratamiento.** Las concentraciones finales (0.125, 0.25, 0.5 mg/mL) fueron establecidas en base a la curva de respuesta de la concentración de la viabilidad que determina las concentraciones máximas a probar. El tiempo del tratamiento (24 h) fue establecido como el tiempo máximo de tránsito de los alimentos en el organismo evitando los efectos tóxicos en las células HT-29.

### **Análisis Western**

#### **Obtención de los paquetes celulares.**

La proteína celular se obtuvo de los cultivos en células HT-29 de los tratamientos a evaluar de *P. paucicapitatum* (Cuachirindó y Rancho Texas),

las pastillas celulares se obtuvieron inmediatamente después de aplicar los tratamientos a cultivos confluentes 72 h post-siembra con un inoculo inicial de  $2,5 \times 10^6$  células/caja de 100 mm. Una vez retirado el medio de cultivo se agregaron 3 mL de verseno al 0.02% y 1 mL de tripsina al 0.15% y se incubaron de 3 a 5 min. Se agregaron 6 mL de PBS 1X para suspender y recolectar las células. La suspensión se llevó a centrifugación a 3000 rpm a 4°C por 5 min. Tras desechar el sobrenadante, la pastilla celular precipitada se suspendió en 300  $\mu$ L de PB pH 7.8 con 0.01% de inhibidor de proteasas y se transfirió a un tubo eppendorf pre-enfriado. A partir de este momento las células se mantuvieron en hielo. La lisis celular se realizó con el ULTRA-TURRAX (IKA T 10 basic) a la máxima velocidad por 30 seg. Una segunda centrifugación se realizó a 3000 rpm a 4°C por 5 min para recuperar el sobrenadante que contenía la proteína soluble, el cual se almacenó a -80°C en alícuotas de 50  $\mu$ L hasta su uso. Se tomó una alícuota del sobrenadante para la cuantificación de proteína, la cual se realizó en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 UV/Vis (Thermo Scientific) usando como blanco PB 7.8.

### **Análisis de inmunotrasferencia de proteína pro- y anti-inflamatorio.**

La concentración de proteína se determinó utilizando el Bio-Rad Bradford, el kit de ensayo de cuantificación de la unión de un colorante (azul de coomassie, G-250) a la proteína, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La fracción de las células tratadas con extractos de *P. paucicapitatum* fueron sometidas a SDS-PAGE y electro transferidas a membranas de nitrocelulosa durante 1 hora a 100 V. (Towbin et al., 1979). Las membranas se sumergieron durante la noche a 4°C en solución bloqueadora (10 mL), que contenía 5% de leche sin grasa en TBS-1X [2.42% Tris, 8% NaCl, pH 7.8]. Las membranas se lavaron con tres cambios de 10 mL de TBS-1X. Se incubaron con el primer anticuerpo, en una dilución preparada en 10 mL de TBS-T [20 mM Tris / HCl, NaCl 100 mM, 0.2% (v / v), pH 7.6] para COX 1 y COX 2 (1:1000), para NF-K $\beta$ , IL8, IL10 (1:200), para TNF $\alpha$  (1:800). Todos los anticuerpos se incubaron durante 2 horas.

Después de lavar con tres cambios de 10 mL de TBS-T, se incubó con un anticuerpo secundario IgG de ratón anti-conejo ó IgG anti-cabra, conjugado con fosfatasa alcalina diluida 1:5000 en 10 mL TBS-T, fue añadido a todas las membranas de nitrocelulosa por una hora. Todos los anticuerpos primarios y secundarios fueron adquiridos de Santa Cruz Biotechnology. La inmunorreactividad se controló mediante el Kit Alkaline phosphatase conjugate Substrate de Bio Rad.

### **Análisis de Actividad Antibacterial del Extracto de *P. paucicapitatum* del Sitio Rancho Texas**

La prueba de actividad antibacterial se llevó a cabo con el extracto acuoso del corno de *P. paucicapitatum* del sitio Rancho Texas, considerando el mayor contenido de fenoles, y actividad antioxidante, así como la mayor concentración de compuestos bioactivos antimicrobiales identificados en este sitio.

### **Material Biológico**

Las cepas bacterianas utilizadas se obtuvieron de la colección de bacterias del Laboratorio de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos del Instituto Tecnológico de Durango: Gram- negative bacteria: Enterobacter aerogenes (ATCC 13048), Escherichia coli (ATCC 25922), Proteus hauseri (ATCC 13315), Proteus mirabilis (ATCC 7002), Proteus vulgaris (ATCC 49132), y Gram-positive bacteria: Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228).

### **Preparación de la solución madre del extracto**

Se preparó una solución madre del extracto acuoso de *P. paucicapitatum* a una concentración de 10,000 ppm. Se pesaron 112.5 mg del extracto del sitio Rancho Texas, y se disolvió en 1.125 ml de Dimetil Sulfoxido (DMSO) al 4%. Posteriormente se filtró con membranas de nylon de 0.45 µM para esterilizar el extracto.

### Ensayo antibacterial

El efecto inhibitorio del extracto acuoso de *P. paucicapitatum* en el crecimiento de las bacterias se llevó a cabo por el método de dilución de agar (Ramírez y Castaño, 2009). Se preparó una solución de bacterias en caldo nutritivo a una dilución 1:100 (0.01). Enseguida en tubos de ensaye se colocaron 10 ml de caldo nutritivo, y se le agregó el volumen de la solución madre del extracto, para ajustar la concentración, y la cantidad de bacterias. Las concentraciones fueron: 0 (control), 125, 250, 500, 1000, 2000, 2500, 3000 y 3500 ppm, que se evaluaron en las bacterias mencionadas anteriormente. Se colocaron 100 µl de muestra en una placa Petri de Agar Nutritivo sólido, las placas se incubaron a 37° C por 24 h. Posteriormente se contó el número de colonias en un contador de colonias (marca Craft) y los resultados se expresaron en Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/mL) y en porcentaje de inhibición (%), determinados con la siguiente formula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{(\text{Número de colonias}) (1000)}{0.1}$$

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{Testigo Absoluto} - \text{UFC/mL} \times 100}{\text{Testigo Absoluto}}$$

Todos los ensayos fueron llevados a cabo por triplicado.

### Análisis Estadístico de la Prueba Antibacterial

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente al azar con ocho concentraciones y tres repeticiones para cada concentración del extracto acuoso de *P. paucicapitatum* y un control absoluto con tres repeticiones. Con los datos obtenidos se llevó a cabo el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de medias por el método de Tukey ( $P=0.05$ ), utilizando el programa Language R (Team Core, 2014). Se aplicó el análisis Probit (Finney, 1971), para calcular la concentración del extracto de la planta, el cual resulta en una inhibición del 50% y 90% del crecimiento visible de las bacterias, cuando se compara con el

control absoluto (MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub>). El programa de análisis SAS Probit (Versión 9.1), fue usado para la evaluación estadística. Los valores de MIC fueron calculados estadísticamente y asociados con valores de Chi-square, significativos al nivel  $P < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Peso Fresco de Cormos y Rendimiento del Extracto Acuoso por Sitio y Tamaño**

El análisis de varianza mostró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en el peso fresco (g) y rendimiento del extracto (%), entre sitios y entre tamaños de cormo (Cuadro 1). Los cormos colectados en Cuachirindó tuvieron mayor peso fresco y rendimiento del extracto acuoso que los de Rancho Texas en un 42.44% y 10.1%, respectivamente. Así mismo por tamaño los cormos de Cuachirindó presentaron mayor peso fresco y rendimiento del extracto acuoso que los de Rancho Texas (Cuadro 1). En relación al tamaño del cormo, en Cuachirindó los cormos grande y mediano son superiores en relación al chico en 259% y 91.8%, respectivamente. En Rancho Texas la relación fue de 339% y 105%, respectivamente. En cuanto al rendimiento del extracto acuoso por tamaño de cormo en Cuachirindó los cormos grandes y medianos fueron superiores en relación al chico en 7.8% y 4.4%, respectivamente. En Rancho Texas la relación fue de 7.8% y 1.1%, respectivamente (Cuadro 1).

Contreras-Weber et al. (2002) reportaron para una extracción sucesiva de las raíces de *P. peltatum* durante 4 h, usando como disolventes hexano, cloroformo, metanol y agua, rendimientos de 5.44%, 2.72%, 7.18% y 8.34%, respectivamente. También Contreras et al. (2005) en una extracción acuosa de las raíces de *P. peltatum* a 40°C durante 2 horas, obtuvieron un rendimiento de 2%. Por otra parte, de las raíces de *P. decompositum* extraídas sucesivamente con hexano y agua a temperatura ambiente se reportó un rendimiento de 21.5% (Merino-Aguilar et al., 2014). Los resultados del rendimiento del extracto acuoso de *P. paucicapitatum* obtenidos en esta investigación, son mayores que los reportados por los autores mencionados anteriormente, lo cual podría atribuirse al método y tiempo de extracción que se utilizó en la reacción. También podría deberse a la capacidad de *P. paucicapitatum* de sintetizar una mayor cantidad de fitoquímicos, favorecidas las plantas por las condiciones



ambientales (Clima, suelo y vegetación), en el cual se desarrollaron en la región de la Sierra Norte de Oaxaca.

**Cuadro 1.** Cuadrados medios de peso fresco de los cormos y rendimiento del extracto acuoso de los cormos de *P. paucicapitatum* colectados en dos sitios y tres tamaños.

<b>Sitio</b>	<b>Peso fresco (g)</b>	<b>Rendimiento Extracto acuoso (%)</b>		
<b>Cuachirindoó</b>	11.65 a	57.74 a		
<b>Rancho Texas</b>	8.60 b	52.44 b		
<b>Tamaño/Sitio</b>	<b>Cuachirindoó</b>	<b>Rancho Texas</b>	<b>Cuachirindoó</b>	<b>Rancho Texas</b>
Chico	5.37 c	3.47 c	55.47 b	50.92 b
Mediano	10.3 b	7.12 b	57.92 a	51.51 b
Grande	19.29 a	15.24 a	59.85 a	54.91 a

Medias seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes a 0.05, nivel de probabilidad de la prueba de Tukey.

### **Contenido Fitoquímico y Actividad Antioxidante**

Los contenidos de polifenoles totales (CTP) y la actividad antioxidante (DPPH.) de los extractos acuosos del corno de *P. paucicapitatum*, son más altos para el sitio Rancho Texas que para Cuachirindoó. En el contenido de flavonoides los valores son más elevados en el sitio de Cuachirindoó. Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que poseen en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por grupos hidroxilos (Apak et al., 2007). Entre los compuestos fenólicos más importantes se encuentran los flavonoides los cuales, además de su comprobada actividad antioxidante, se les ha atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, tales como actividad cardiotónica, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antineoplástica y antimicrobial (Narayama et al., 2001).

El contenido total de fenoles y la actividad antioxidante del extracto acuoso de los cormos de *P. paucicapitatum* del sitio Rancho Texas, superaron en 93.81% y 290.65% respectivamente, a los de Cuachirindó. Sin embargo, los cormos de Cuachirindó, reportaron 105.89% más contenido total de flavonoides que los de Rancho Texas (Cuadro 2). Las propiedades biológicas de los extractos de las plantas se han atribuido a los contenidos de fenoles y flavonoides, así como a la actividad antioxidante. Los resultados de CTP y CTF de la presente investigación no son elevados, pero la actividad antioxidante de los cormos de Rancho Texas es importante. Garduño-Ramírez y Delgado, (2003) reportaron que el cacalol aislado de las raíces de *P. radulifolium* presentó los más altos porcentajes de inhibición del radical DPPH<sup>•</sup>, en relación a los otros compuestos aislados. Los valores de inhibición variaron en función de la concentración del cacalol de 15.27% a 73.13%, en concentraciones de 1µM a 100µM, respectivamente. Estos resultados son superiores a los reportados por *P. paucicapitatum* en el presente estudio (19.24% de inhibición a la concentración de 1mg/mL). Es importante considerar que el cacalol es un compuesto puro, a diferencia del extracto de *P. paucicapitatum*, que está integrado por una matriz de compuestos químicos.

El efecto de la actividad biológica de *P. paucicapitatum* podría atribuirse en parte, a la sinergia entre los compuestos fenólicos y flavonoides que promueven la actividad antioxidante del extracto. Sin embargo, para explicar el efecto total del extracto, habría que considerar, además, los compuestos químicos que en general integran el extracto. Los resultados presentados en este estudio son el único reporte científico de contenido de fenoles totales y flavonoides, así como de actividad antioxidante de *P. paucicapitatum*.

**Cuadro 2.** Contenido de polifenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante de cormos de *P. paucicapitatum* por sitio.

<b>Sitio</b>	<b>Polifenoles (mg EAG/g)<sup>1</sup></b>	<b>Flavonides (mg EC/g)<sup>2</sup></b>	<b>DPPH<sup>·</sup> (%)</b>
<b>Extracto</b>			
<b>Cuachirindó</b>	3.6726	8.8631	4.9272
<b>Rancho Texas</b>	7.1182	4.3046	19.2482
<b>Infusión</b>			
<b>Cuachirindó</b>	0.37	0.38	0.92
<b>Rancho Texas</b>	0.33	0.81	4.16

<sup>1</sup> Miligramos Equivalentes de Ácido Gálico por gramo de cormo

<sup>2</sup> Miligramos Equivalentes de Catequina por gramo de cormo

### **Composición Química de los Extractos de los Cormos de *P. paucicapitatum* por Sitio por GC-MS**

A continuación, se presentan los resultados de la composición química de los cormos tamaño mediano y grande de los sitios Cuachirindó y Rancho Texas.

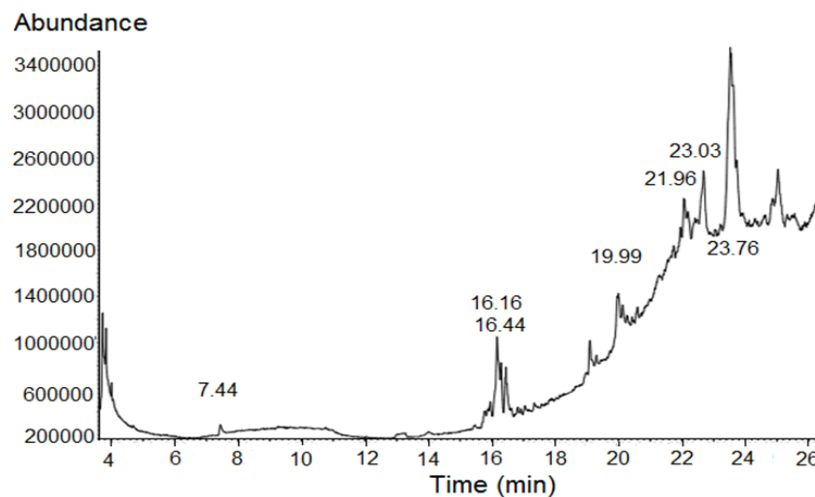
#### **Cuachirindó**

Los compuestos identificados en la fracción volatilizable de los extractos acuosos de los cormos de *P. paucicapitatum* de Cuachirindó se presentan en la Cuadro 3. En los extractos fue posible identificar cinco compuestos en los cormos tamaño grande y siete en los medianos (Fig. 8). En ambos extractos se observó la presencia de Ethyl iso-allocholate (Fig. 9), el cual es un Fitoquímico de naturaleza esteroideal y se encuentra en mayor concentración en los cormos grandes (32.34%). Este compuesto ha sido reportado como agente terapéutico potencial por poseer actividad anti-inflamatoria, anticancer, antimicrobial y antioxidante (Sudha et al., 2013; Saravanan et al., 2014; Sheela and Uthayakumari, 2013; Vithya et al., 2014). Además, se observó la presencia de Forbol (Fig. 10), el cual ha sido reportado como antinutricional, pero también puede actuar como antimicrobiano (Goel et al., 2007). Otro de los compuestos de interés biológico detectado fue el 7,8-Epoxylnostan-11-ol, 3-acetoxy- (Fig. 11), el cual es un compuesto alcohólico con actividad terapéutica reportada

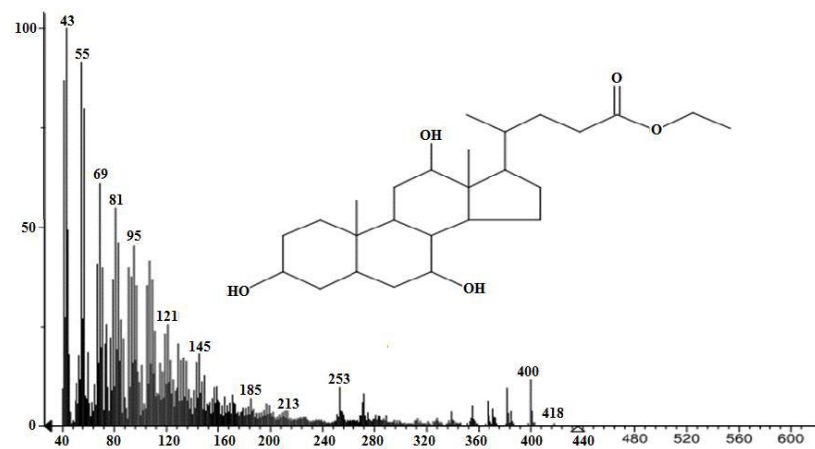
como antimicrobial y anti-inflamatorio (Zequeya et al., 2014). Además se identificó el Oleic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester (Fig. 12), el cual es un compuesto de naturaleza ester de ácido graso, en mayor concentración en los cormos medianos (51.39%). El cual se ha reportado con actividad anti-adipogenic y antifúngica (Abubacker and Devi, 2014), y el 2-Hexadecanol (Fig. 13), compuesto de naturaleza alcohólica, que ha sido reportado con actividad antimicrobial (Dr. Duke's, 2016).

**Cuadro 3.** Compuestos identificados por GC-MS en la fracción volátil del extracto acuoso de los cormos de *P. paucicapitatum* del sitio Cuachirindó.

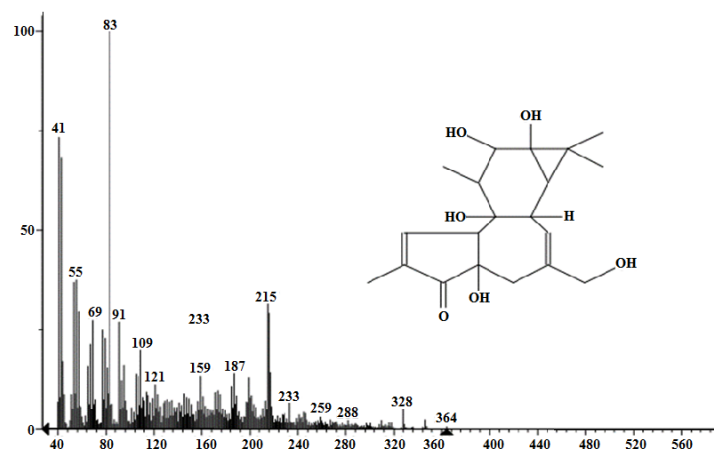
RT (min)	Nombre del compuesto	Formula molecular	PM	Área %
<b>Grande</b>				
7.34	2-Hexadecanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	1.92
21.29	Phorbol	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	364	24.79
21.95	Ethyl iso-allocholate	C <sub>26</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	437	32.34
22.08	Oleic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester	C <sub>39</sub> H <sub>76</sub> O <sub>3</sub>	593	20.61
22.18	7,8-Epoxy lanostan-11-ol, 3-acetoxy-	C <sub>32</sub> H <sub>54</sub> O <sub>4</sub>	503	20.34
<b>Mediano</b>				
7.44	2-Hexadecanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	0.47
16.16	2-sec-Butyl-4,6-dinitrophenyl 3-methylcrotonate	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	322	9.20
16.44	2-Butenoic acid, 2-methyl-, dodecahydro-8-hydroxy-8a-methyl-3,5-bis(methylene)-2-oxonaphtho[2,3-b]furan-4-yl ester, [3ar-[3a	C <sub>27</sub> H <sub>38</sub> O <sub>8</sub>	490	3.35
19.99	Phorbol	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	364	9.86
21.96	Ethyl iso-allocholate	C <sub>26</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	437	17.91
23.03	Oleic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester	C <sub>39</sub> H <sub>76</sub> O <sub>3</sub>	593	51.39
23.76	7,8-Epoxy lanostan-11-ol, 3-acetoxy-	C <sub>32</sub> H <sub>54</sub> O <sub>4</sub>	503	7.84



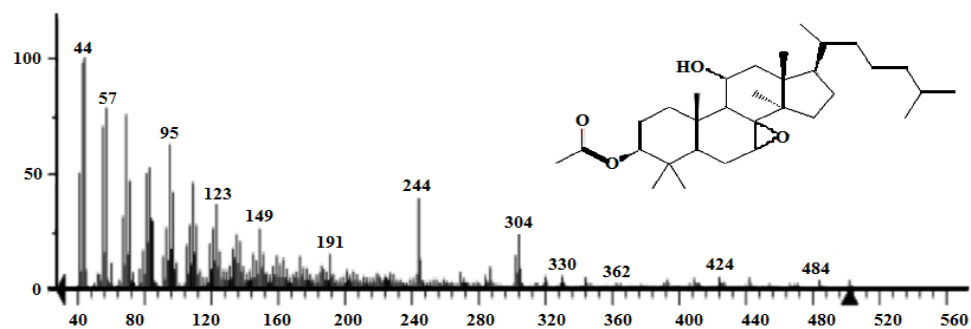
**Figura 8.** Cromatograma por GC-MS, del extracto acuoso (mediano) del sitio Cuachirindó.



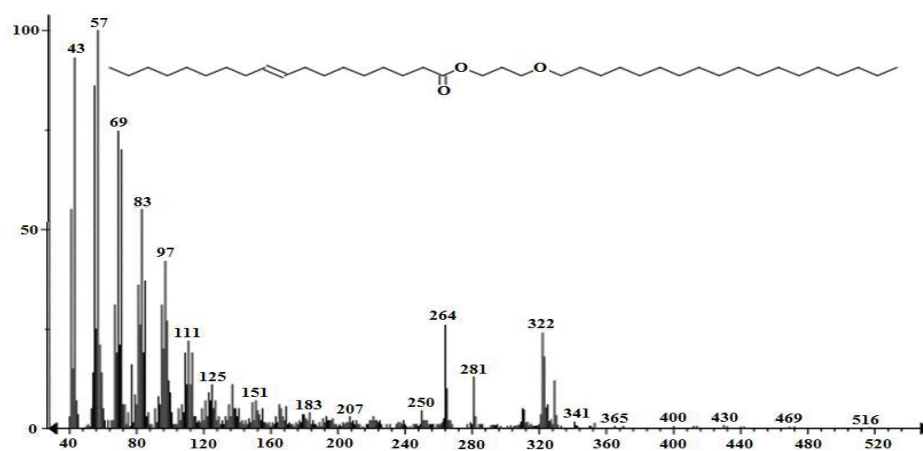
**Figura 9.** Espectro de masas y estructura del Ethyl iso-allocholate.



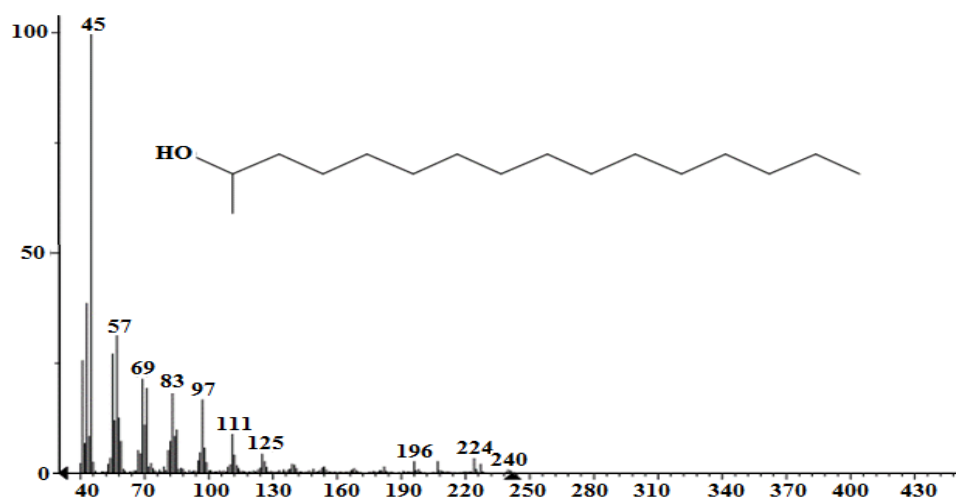
**Figura 10.** Espectro de masas y estructura del Forbol.



**Figura 11.** Espectro de masas y estructura del 7,8-Epoxyanostan-11-ol, 3-acetoxy-.



**Figura 12.** Espectro de masas y estructura del Oleic acid,3-(octadecyloxy)propil ester.



**Figura 13.** Espectro de masas y estructura del 2-Hexadecanol.

## Rancho Texas

En el sitio Rancho Texas se identificaron en la fracción volatilizable de los extractos acuosos de los cormos de *P. paucicapitatum* cinco compuestos en los cormos grandes y cuatro en los medianos (Cuadro 4). En ambos extractos se observó la presencia del Ethyl iso-allocholate (Fig. 9), el cual se encuentra en cantidades sobresalientes en los cormos grandes (81.9%) y medianos (49.45%). En el corno grande se presentaron además el Imidazole-4-carboxylic acid, 2-fluoro-1-methoxymethyl-, ethyl ester, de naturaleza ester aromática, el cual ha sido reportado por su actividad anticancer, antiviral, anti-HIV, antiprotozoal y antimicobacterial (Haider et al., 2016). La presencia del núcleo imidazole así como de un átomo de flúor en la molécula, potencializa las actividades biológicas del compuesto para el tratamiento de enfermedades (Narasimhan et al., 2010; Eto et al., 2000); además el Tetraacetyl-d-xylonic nitrile, de naturaleza compuesto nitrogenado, el cual ha sido reportado por su actividad antioxidante y antiviral (Haider et al., 2016).

La naturaleza de los compuestos bioactivos identificados en los extractos acuosos de los cormos de Cuachirindó y Rancho Texas, demuestran que *P. paucicapitatum* posee actividad terapéutica. Sin embargo, los extractos de Rancho Texas presentaron mayor concentración del Ethyl iso-allocholate en el corno grande, que podría ser la causa del más alto resultado del contenido total de polifenoles y de actividad antioxidante, reportados en el presente estudio. Además, presentó un compuesto con núcleo imidazol y un átomo de flúor que le podría proporcionar una mayor actividad terapéutica, y que haría la diferencia con los cormos de Cuachirindó.

Los resultados anteriores confirman la utilización medicinal que los habitantes de Ixtlán de Juárez han hecho de los cormos, especialmente de los de tamaño mediano y grande, al consumirlos tradicionalmente para mejorar diferentes malestares de la salud. Estos compuestos bioactivos son reportados por primera vez en los cormos de *P. paucicapitatum*.

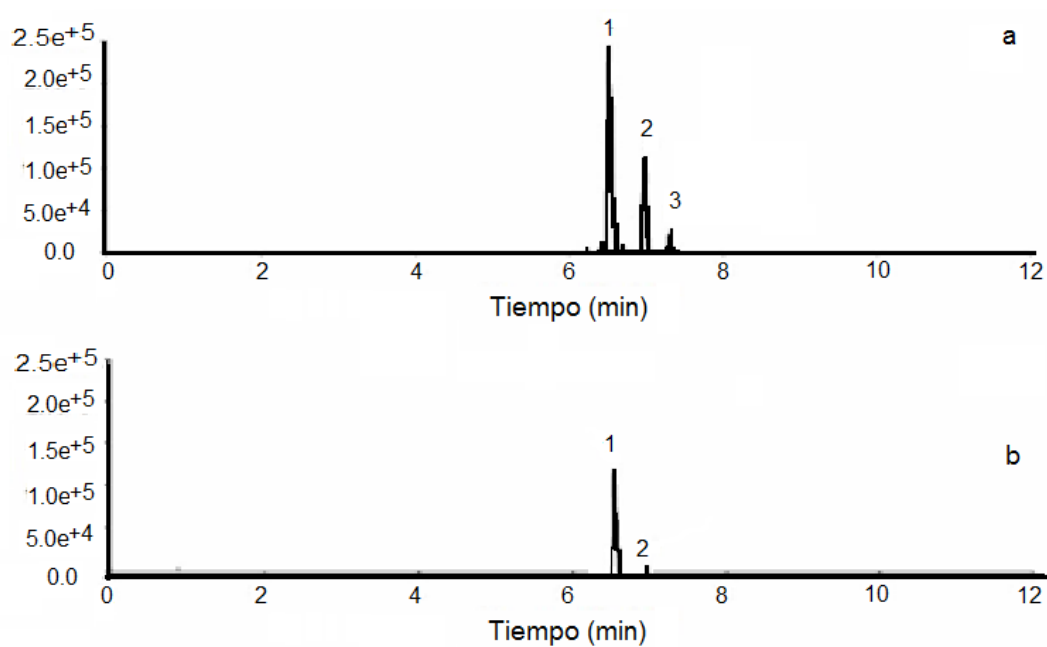
**Cuadro 4.** Compuestos identificados por GC- MS en la fracción volátil del extracto acuoso de los cormos de *P. paucicapitatum* del sitio Rancho Texas.

RT (min)	Nombre del compuesto	Formula molecular	PM	Área %
<b>Grande</b>				
7.26	Cystine	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	240	6.71
7.44	2-Hexadecanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	2.56
9.95	Imidazole-4-carboxylic acid, 2-fluoro-1-methoxymethyl-, ethyl ester	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	202	2.86
20.61	Tetraacetyl-d-xylonic nitrile	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>9</sub>	343	5.97
24.56	Ethyl iso-allocholate	C <sub>26</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	437	81.9
<b>Mediano</b>				
7.44	2-Hexadecanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	1.12
21.24	Propanoic acid, 2-(3-acetoxy-4,4,14-trimethylandrosta-8-en-17-yl)-	C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	431	9.6
21.73	Ethyl iso-allocholate	C <sub>26</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	437	49.45
23.05	9-Octadecenoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester, cis-	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	445	39.84

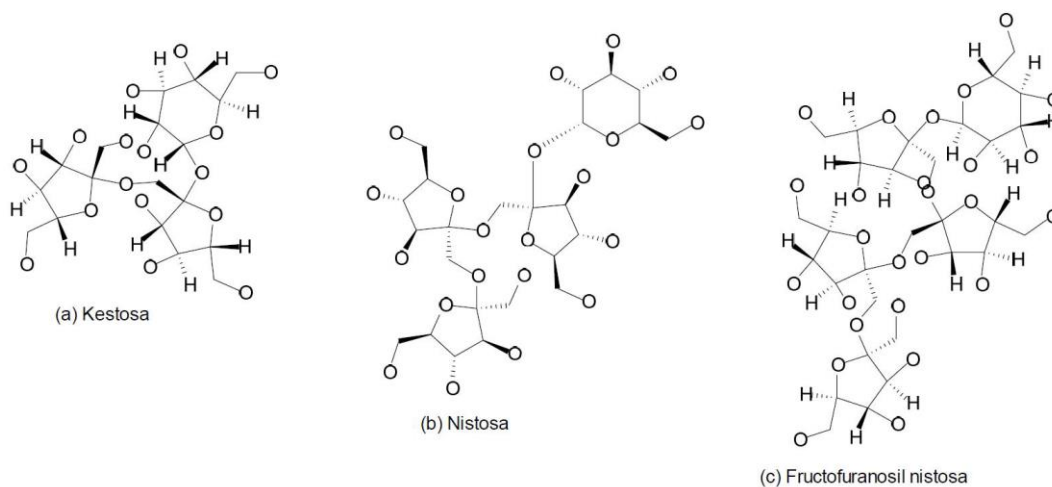
#### **Composición Química de la Infusión de *P. paucicapitatum***

Los resultados del análisis de LC-MS/MS, muestran la identificación de tres compuestos fructooligosacáridos (FOS) (Fig. 14), obtenidos en la infusión de los cormos de *P. paucicapitatum* de dos sitios (Cuachirindó y Rancho Texas), además se presentan las estructuras químicas (Fig. 15). En el Cuadro 5. se presenta el nombre del compuesto, tiempo de retención (min), masas y contenido de los FOS identificados en *P. paucicapitatum*. Se identificaron tres compuestos: Kestosa, Nistosa, y Fructofuranosilnistosa. Siendo la kestosa la que presentó la más alta concentración en los dos sitios en relación a los otros compuestos (Cuadro 5).





**Figura 14.** Perfil de elución por LC-ESI-MS2 de a) infusiones de *P. paucicapitatum* de la Localidad de Cuachirindó, Oaxaca, b) infusiones de *P. paucicapitatum* de Rancho Texas, Oaxaca. Compuestos identificados por tiempo de retención y MS<sup>2</sup>: *Kestosa*; *Nistosa* y *Fructofuranosilnistosa*.



**Figura 15.** Estructura química de los Fructooligosacaridos: (a) *kestosa*, (b) *Nistosa*, (c) *Fructofuranosilnistosa* (Guio et al., 2009).

Los fructanos son la reserva principal de carbohidratos en las plantas, los cuales son almacenados en hojas, tallos o raíces, hay una mayor presencia de fructanos particularmente en bulbos, tubérculos y rizomas (Hendry et al., 1993). Lo cual está en concordancia con los fructooligosacaridos encontrados en los cormos de *P. paucicapitatum*. Las dos especies que se usaron principalmente en la industria para la obtención de inulina y fructooligosacáridos pertenecen a la familia Asteraceae, estas especies son alcachofa (*Helianthus tuberosus*) y Achicoria (*Chicorium intibus*), siendo la Achicoria la más utilizada (Debruyn et al., 1992). La inulina es procesada para producir fructanos de cadena corta, denominados fructooligosacáridos.

El sitio Cuachirindó obtuvo la mayor cantidad de Fructanos presentes en la infusión de *P. paucicapitatum*, indicando presencia de carbohidratos (Cuadro 5), Delzenne y Kok, (2001) reportaron que tanto la inulina como los fructooligosacaridos son carbohidratos solubles considerados como fibra dietética que a su vez proporciona efectos benéficos al organismo humano. Además, favorecen la absorción del calcio y mineralización de los huesos y también pueden utilizarse como ingrediente alimenticio bajos en energía y pueden funcionar como edulcorantes o como sustituto de grasas; sin restarle mérito a su efecto prebiótico, también han mostrado mayor absorción de minerales, inhibición en el desarrollo de cáncer de colon y disminución de triglicéridos y colesterol en la sangre (Vijn y Smeekens, 1999; Franck et al., 2006).

Es la primera vez que se identifican Fructanos en *P. paucicapitatum*, aunque han sido identificados con anterioridad en otras especies de *Psacalium*, como es el caso de: *Psacalium peltatum* en donde Contreras et al. (2002) encontraron un carbohidrato aislado de una fracción acuosa, al cual llamaron peltalosa el cual es responsable de la actividad hipoglucemiante de esta planta. Merino et al. (2014) reportaron el aislamiento de una fracción de FOS de las raíces de *P. decompositum* que produce en ratas macho Wistar inducidas en obesidad con fructosa, efecto anti-inflamatorio y un efecto inhibitorio en el incremento en peso, producción de triglicéridos y colesterol. Alarcón-Aguilar et al. (2010)

reportaron que la fracción-Ap hipoglicémica obtenida de *P. peltatum* posee un alto contenido de fructanos y puede producir efectos antiinflamatorios y antioxidante en ratones con diabetes inducida por streptozotocin.

Jiménez et al. (2011), aislaron de extractos acuosos de *P. decompositum* un compuesto tipo inulina que identificaron como el compuesto responsable de la actividad hipoglucémica. El uso de prebióticos provee a la microbiota intestinal, de una fuente de sustrato adicional para su metabolismo fermentativo, elevando la concentración de ácidos grasos de cadena corta en el intestino, los cuales se han relacionado con efectos benéficos para la salud del hospedante (Fernández, 2013).

**Cuadro 5.** Datos de tiempo de retención, masas y contenido de fructooligosacáridos presentes en infusiones de *P. paucicapitatum*.

Nombre del compuesto	TR (min)	[M-H] <sup>+</sup> m/z	iones MS <sup>2</sup>	Infusión	
				Cuachirindoó	Rancho Texas
Kestosa	6.53	503	323,179.89	51.76±2.168 <sup>a</sup>	15.708±5.189 <sup>a</sup>
Nistosa	6.98	665	485,179.89	21.016±2.035 <sup>b</sup>	1.207±0.838 <sup>b</sup>
Fructofuranosilnistosa	7.32	827	179,161.11	4.202±0.929 <sup>c</sup>	0.000±0.000 <sup>c</sup>

### Espectro FT-IR

Las señales de banda de los grupos funcionales presentados en los compuestos identificados en los extractos de Cuachirindoó y Rancho Texas, se muestran en el Cuadro 6, Contreras-Weber et al. (2005) para la especie *P. peltatum* reportaron la presencia de 2,6-anhydro-s-ulopiranosse (C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub>) o peltalosa, cuyas principales bandas de absorción de su espectro IR corresponden con las observadas en los espectros de los extractos analizados en la presente investigación. Así, podría deducirse que es posible que en los cormos de *P. paucicapitatum* también exista peltalosa. Dicha suposición está siendo corroborada por la posterior purificación y análisis de fracciones de extractos acuosos de esta especie.

Por otra parte, Garduño et al. (2001), reportaron el estudio realizado a *P. radulifolium*, identificando dos compuestos denominados *radulifolin A* y *epi-radulifolin A* (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>), cuyo espectro IR presentó bandas de absorción correspondientes a grupos hidroxilo (3377 cm<sup>-1</sup>), carbonilo (1736 cm<sup>-1</sup>) y bandas de estiramiento carbono-carbono (1624, 1595, 1470 y 1444 cm<sup>-1</sup>).

**Cuadro 6.** Bandas y asignaciones de grupos funcionales en el extracto de *P. paucicapitatum* de Cuachirindó y Rancho Texas por FTIR (ATR), análisis comparado con el espectro FTIR de *P. peltatum* (Contreras et al., 2005)

<i>Cuachirindó</i>	Rancho Texas	<i>Psacalium</i> <i>peltatum</i> *	Asignación
Longitud de onda (cm <sup>-1</sup> )			
-	-	3388	O-H,
3273	3273	--	C-H, C-N
2929	2936	2923	C-H
1633	1626	1633	C=C, Sobretono de compuestos aromaticos, N-H
1409	1408	-	C-O
-	-	1385	C-H <sub>3</sub>
1252	1244	-	C=C
-	-	1131	C-H
1050	1051	1034	C-O-C, C-O
977	978	935	C-O
-	920	-	C=C
867	866	868	Posible sustitución de compuestos aromáticos
817	817	815	Posible sustitución de compuestos aromáticos
778	778	-	Posible sustitución de compuestos aromáticos
-	700	-	CH <sub>2</sub>

## Efecto Hipoglucémico

### Efecto Hipoglucémico de *P. paucicapitatum* Sobre los Niveles de Glucosa en Ratas

En la Fig. 16, se muestra el efecto modulador del extracto de *P. paucicapitatum* en la concentración de glucosa en sangre. A los 98 días del experimento se observa una marcada disminución de glucosa de un 65.22% en el control tratado con *P. paucicapitatum*, en relación al control sano, corroborando así la actividad hipoglucémica que el extracto posee, que se atribuye a los fructooligosacáridos presentes: Kestosa, Nistosa y Fructofuranosilnistosa.

El efecto hipoglucémico observado en los grupos tratados con infusiones es similar a varios estudios realizados con otras especies de *Psacalium*, aunque en estos estudios se ha utilizado diferentes extractos (no infusión), los resultados han sido similares, sugiriendo que la acción hipoglucémica de las infusiones se asocia con un aumento de la síntesis de glucógeno en el hígado, una glucogénesis reducida, así como una mejora de la resistencia a la insulina (Louet et al., 2001; Fruchart y Duriez, 2006; Mourtzinou et al., 2008).

En un estudio antihiper glucémico en un modelo de ratones C57BL-6J con diabetes tipo 2, Inman et al. (1999), evaluaron el extracto acuoso de *P. decompositum*, reportando valores de glucosa de 33.9 mg/dL a las 24 horas de aplicar el extracto a una dosis de 1000 mg/kg. Estos valores son cercanos a los obtenidos al tercer mes del experimento (38.25mg/dL) con la infusión de *P. paucicapitatum* (Cuadro 7).

(Alarcon-Aguilar et al. 2000), para la decocción de la raíz de *P. decompositum* reportaron niveles de glucosa en sangre de ratones (Cepa-CD1), de 50.99 mg/dL en ayuno, 31.29 mg/dL a los 120 min y 32.59mg/dL a los 240 minutos. Estos valores son similares a los cuantificados en la presente Investigación a los 98 días de evaluación de la infusión de *P. paucicapitatum*. Estos mismos autores aislaron de *P. decompositum* la fracción WMP, la cual tuvo un importante efecto hipoglucémico en ratones cuando se incluyó a concentraciones de 50, 100 y 200 mg/kg. Y en la cual se detectaron polisacáridos. Este efecto podría atribuirse a la acción sinérgica de los

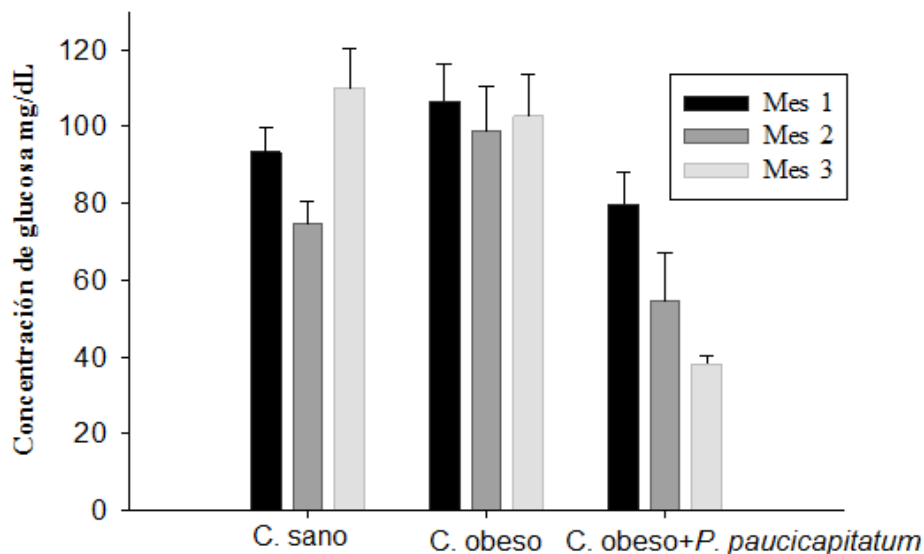
principios activos, aislados a partir de la misma fracción de FOS, cuyas acciones son en particular difíciles de reproducir a las sustancias puras. En estos casos, los principios son diferentes en sus actividades relativas (Capasso-Francesco., 1985).

Alarcón-Aguilar et al. (2010), aislaron de la raíz de *P. decompositum*, la fracción AP, la cual evaluaron durante 48 días en ratones CD-1, administrando diariamente 200 mg/kg de la fracción, obteniendo efecto hipoglucémico. Jimenez-Estrada et al. (2011) aislaron del extracto acuoso de *P. decompositum* una fracción WMP correspondiente a los oligosacáridos de tipo fructano que mostró un efecto hipoglucémico en ratones machos (Cepa-CDI) sanos y diabéticos. Contreras et al. (2005) encontraron que el extracto acuoso de *P. peltatum* previamente extraído con disolventes orgánicos también produce efecto hipoglucémico. El componente mayoritario identificado en esta especie es la Peltalosa.

**Cuadro 7.** Efecto modulador de la concentración de glucosa en sangre por parte de la infusión de *P. paucicapitatum* en comparación con el control obeso y control sano.

Control	Mes		
	1	2	3
sano	93.4±6.2 a	74.66±5.8 c	110±10.18 b
obeso	106.66±9.6 c	98.75±11.9 b	102.83±10.97 c
obeso + <i>P. paucicapitatum</i>	79.8±8.24 b	54.62±12.31 a	38.25±2.05 a

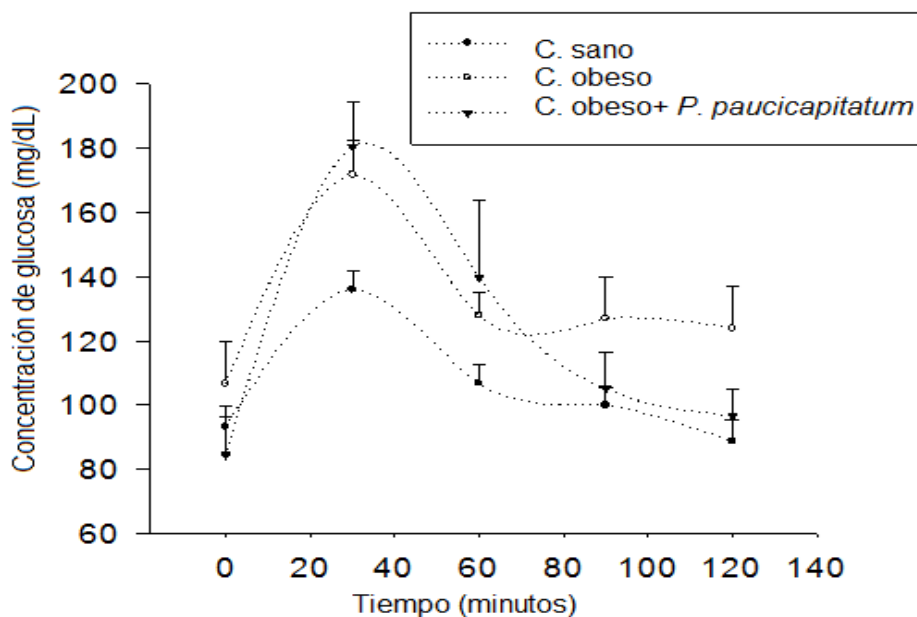
Los datos se presentan como la media ± EE.



**Figura 16.** Efecto modulador de la concentración de glucosa en sangre por la infusión de *P. paucicapitatum* en comparación con el control obeso y control sano. Los datos se presentan como la media  $\pm$  EE.

### Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG)

La curva de tolerancia a la glucosa (CTG), se realizó a las 13 semanas de tratamiento, donde el control sano mostró una concentración de 93.4mg/dL al tiempo 0, llegando a valores máximos de 136mg/dL a la media hora después de la descarga oral de dextrosa, y regresó a niveles basales a los 120 minutos con 88.8mg/dL. El control obeso inició con niveles de 106mg/dL al tiempo 0, y a la media hora después de la carga oral de dextrosa, obtuvo valores máximos de 171mg/dL, regresando a los 120 minutos a concentraciones de 124mg/dL. *P. paucicapitatum* inició con 84.5mg/dL al tiempo 0, llegando a valores máximos de 136mg/dL a la media hora después de la descarga oral de dextrosa, y regresó a niveles basales a los 120 minutos con 96.6 mg/dL (Fig. 17).

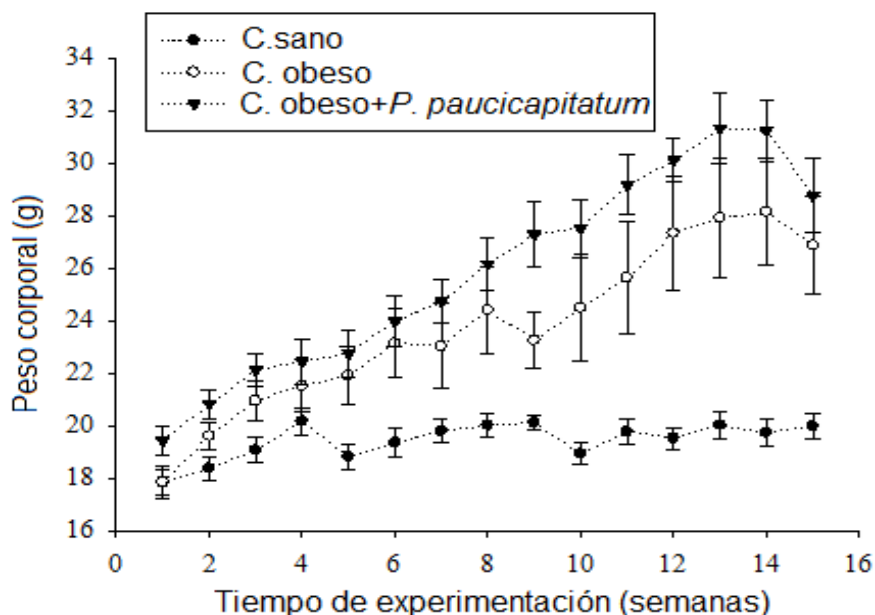


**Figura 17.** Curva de tolerancia a la glucosa en ratones con obesidad inducida, con dieta alta en grasa saturada y fructosa, tratadas con infusiones de *P. paucicapitatum*. Los datos se presentan como la media  $\pm$  EE.

### Peso Corporal de los Ratones

Los resultados del peso corporal durante las 14 semanas del tratamiento se presentan en la Fig. 12. Se puede observar que el control obeso y el control obeso+*P. paucicapitatum* ganaron más peso corporal que el control sano siendo un 11.95% para el sano, 50.39% para el obeso y 48.14% para *P. paucicapitatum*, respectivamente, mostrando el control obeso y *P. paucicapitatum* un incremento 4 veces mayor respecto al sano, lo que puede deberse a la acumulación de altos niveles de triglicéridos y grasa administrados en la dieta. Inman et al. (1999), en un estudio antihiperlipémico en un modelo de ratones C57BL-6J con diabetes tipo 2, evaluaron el extracto acuoso de *P. decompositum*, y reportaron valores de peso de 43.7g. Estos valores son más altos que los obtenidos por *P. paucicapitatum*. Sin embargo, Merino-Aguilar et al. (2014), aislaron de la raíz de *P. decompositum* una fracción de FOS, que presentó un efecto inhibitor sobre el aumento de peso en ratas macho wistar, efecto contrario a lo ocurrido en esta investigación.



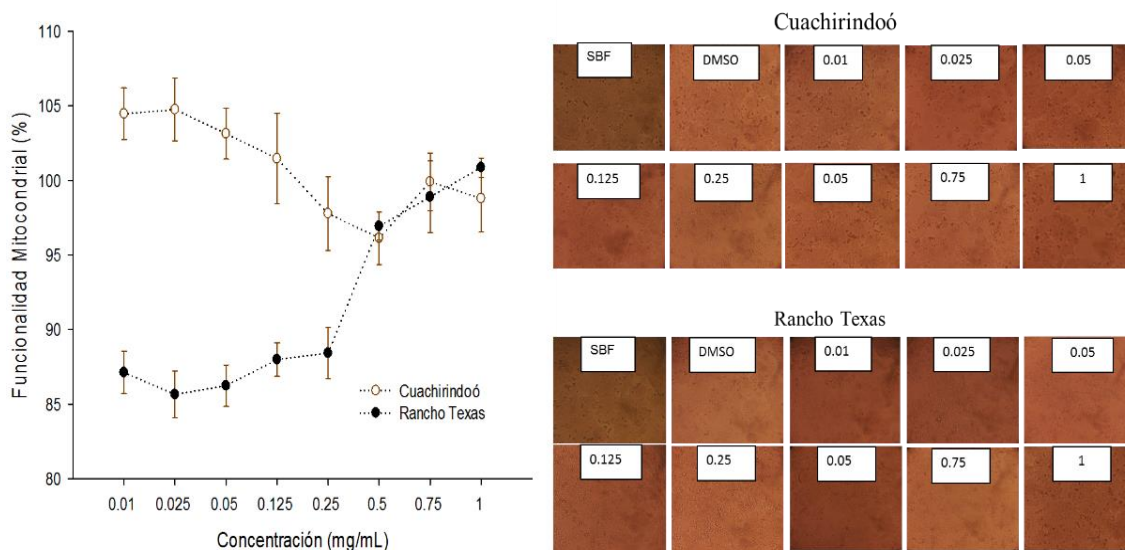


**Figura 18.** Peso corporal de ratones con obesidad inducida con dieta alta en grasa saturada y fructosa, tratadas con infusiones de *P. paucicapitatum*. Los datos se presentan como la media  $\pm$  EE.

### Efecto Biológico del Extracto de *P. paucicapitatum* en Células HT-29 Viabilidad Celular

En cuanto a la viabilidad celular en células HT-29, el extracto de *P. paucicapitatum* del sitio Cuachirindoo careció de efecto citotóxico, sin embargo, Rancho Texas, presentó una viabilidad celular del 17% a la concentración de 0.025 (Fig. 19). Juárez - Vázquez et al. (2013), reportaron en varios tipos de cáncer como: Cuello uterino (HELA), Colorrectal (SW-480), de mama (MDA-MB-231), Leucemia (K562) y de carcinomas de hígado (HepG2) que el tratamiento con *P. peltatum* careció de efecto citotóxico en estas líneas celulares.

Las células epiteliales intestinales constantemente están sometidas a estrés citotóxico, metabólico y patogénico que puede producir una rotura en la barrera intestinal, el paso de componentes microbianos y la respuesta pro inflamatoria correspondiente (Harris et al., 2012).

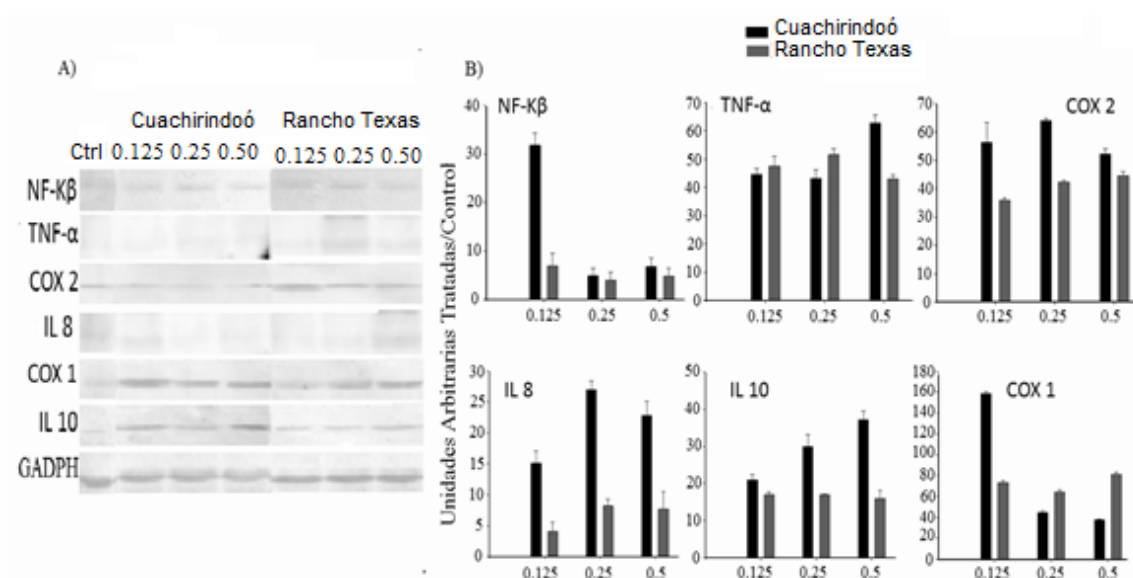


**Figura 19.** Efecto del extracto acuoso sobre la funcionalidad enzimática mitocondrial de células HT29 a concentraciones que no afectan pH, y estabilidad de compuestos en el sistema.

### Expresión de Proteínas Pro-inflamatorias y Anti-inflamatorias in Vitro

El efecto del extracto acuoso de *P. paucicapitatum* en el proceso inflamatorio se muestra en la Fig. 20. En el caso de NF- $\kappa$ B, tuvo un elevado incremento a la concentración de 0.125 para el sitio de Cuachirindó, y una marcada disminución a concentraciones de 0.25 y 0.5 para los dos sitios (Cuachirindó y Rancho Texas). En TNF- $\alpha$  se expresó a concentraciones de 0.125 y 0.25 el sitio Rancho Texas, pero a la concentración 0.5 hubo una mayor expresión del sitio Cuachirindó. Para COX 2, IL 8, IL 10 hubo mayor expresión del sitio Cuachirindó. En COX 1 a la concentración de 0.125 se presentó mayor expresión del sitio Cuachirindó y para concentraciones de 0.25 y 0.5 se expresó más el sitio de Rancho Texas. Estos resultados muestran que los extractos presentaron actividad anti-inflamatoria. Sin embargo, hubo mayor expresión en los marcadores pro-inflamatorios NF- $\kappa$ B, COX 2, IL 8, para el extracto del sitio de Cuachirindó, lo cual indica que los cormos de este sitio tienen mayor actividad antiinflamatoria que el sitio Rancho Texas.

Cuando se presenta una infección muchos macrófagos y mastocitos liberan inmediatamente a mediadores solubles como citosinas pro-inflamatorias tal es el caso de TNF- $\alpha$  e interleucinas (Manu y Kuttan, 2009). Las interleucinas son un eslabón más en la comunicación entre células del sistema inmune innatas (Juárez-Vázquez et al., 2010). Se ha reportado a TNF- $\alpha$  como el mediador pro inflamatorio más importante en la inflamación metabólica (Sen et al., 2003). Malaguarnera (2012), describió a los fructooligosacáridos como inductores de profundos cambios metabólicos en la composición y modulación de la microbiota intestinal, generando mecanismos anti-inflamatorios y efectos inmunomoduladores, lo cual justifica el efecto de *P. paucicapitatum* en conjunto con los compuestos bioactivos identificados en los cormos de *P. paucicapitatum* como: Ethyl iso-allocholate; 7,8-Epoxy lanostan-11-ol, 3-acetoxy-; Oleic acid, 3-(octadecyloxy) propyl ester así como el 9-Octadecenoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl ester, cis-, compuestos reportados con actividad anti-inflamatoria (Sudha et al., 2013; Sheela y Uthayakumari, 2013; Saravanan et al., 2014; Vithya et al., 2014; Zequeya et al., 2014; Abubacker y Devi, 2014).



**Figura 20.** Niveles diferenciales de proteínas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias en las células HT-29 tratadas con el extracto acuoso de *P. paucicapitatum*. A) inmunoblots representativo de NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , COX 2, IL 8, IL 10, COX 1, de células tratadas en suero. B) Densidad de bandas de NF- $\kappa$ B,

TNF- $\alpha$ , COX 2, IL 8, IL 10, COX 1, fueron semicuantificadas por imagen y expresadas como unidades arbitrarias sobre control.

### Efecto Antibacterial del Extracto de *P. paucicapitatum*

El efecto de la actividad biológica de las concentraciones del extracto acuoso de los cormos de *P. paucicapitatum* del sitio de Rancho Texas, mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las seis bacterias estudiadas. En general el extracto tuvo una elevada inhibición de las bacterias en el rango de 2000 a 3500 ppm, siendo estadísticamente iguales en este rango (Cuadro 9). El extracto de *P. paucicapitatum* obtuvo en este rango la más alta inhibición de *E. coli* y *E. aerogenes* con 98.9% y 98.5%, respectivamente, seguidas de *P. vulgaris* con 97.4% de inhibición. A continuación *P. mirabilis* y *S. epidermidis* reportaron 93% y 91.15% de inhibición media, respectivamente, y *P. hauseri* fue inhibida en 88.2%.

**Cuadro 8.** Valores promedio de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC / mL) y del porcentaje de inhibición (%), de las bacterias evaluadas con el extracto acuoso de *P. paucicapitatum* del sitio Rancho Texas.

Concentración (ppm)	<i>E. aerogenes</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. hauseri</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>P. vulgaris</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	UFC/ml	Inhibición (%)	UFC/ml	Inhibición (%)	UFC/ml	Inhibición (%)	UFC/ml	Inhibición (%)	UFC/ml	Inhibición (%)	UFC/ml	Inhibición (%)
TA	232,500ab	0.0 c	585,000a	0.0 e	1,702,500a	0.0 c	832,500 a	0.00 e	240,000 b	0.00 c	367,500 b	0.00 b
125	135,000bc	41.9 c	305,000b	47.8 cd	130,000 cd	92.3 a	525,000 b	36.9 d	475,000 a	0.00 c	670,000 a	0.00 b
250	360,000 a	0.0 c	335,000b	42.7 d	1,525,000a	12.3 c	490,000bc	41.1 cd	625,000 a	0.00 c	280,000bc	23.8 b
500	290,000ab	0.0 c	255,000b	56.4 b	425,000 b	75.0 b	325,000cd	60.9 bc	200,000bc	38.8 bc	370,000 b	9.7 b
1 000	150,000bc	45.1 bc	275,000 b	52.9 bc	350,000 bc	79.4 ab	175,000de	78.9 ab	645,000 a	0.00 c	285,000bc	25.4 b
2000	15,000 c	96.1 ab	0 c	100.0 a	55,000 d	89.6 ab	165,000de	84.0 a	0 d	100 a	50,000 c	86.3 a
2500	0 c	100.0 a	0 c	100.0 a	40,000 d	92.4 a	40,000 e	95.2 a	0 d	100 a	20,000 c	94.5 a
3000	5,000 c	97.8 a	10,000 c	98.2 a	70,000 d	86.7 ab	25,000 e	97.0 a	0 d	100 a	40,000 c	89.1 a
3500	0 c	100 a	15,000 c	97.4 a	85,000 cd	83.9 ab	35,000 e	95.8 a	25,000 cd	89.5 ab	20,000 c	94.5 a
C.V.	42.1	33.9	19.69	4.4	19.99	7.7	22.2	11.7	28.3	37.5	41.1	26.2

TA: Testigo Absoluto CV: Coeficiente de Variación.

El orden de clasificación de efectividad para el extracto acuoso de *P. paucicapitatum* en el control de las bacterias estudiadas, fue determinado por la concentración mínima inhibitoria al 90% (MIC<sub>90</sub>) (Cuadro 9), presentando el

siguiente orden: *P. mirabilis* requiere una dosis de 2034 ppm; *P. vulgaris*, 2356 ppm; *E. aerogenes*, 2878 ppm; *S. epidermidis*, 3039 ppm; *E. coli*, 3166 ppm y *P. hauseri*, 5238 ppm.

**Cuadro 9.** Concentraciones MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> del extracto acuoso de *P. paucicapitatum*.

Concentración (ppm)	Bacteria					
	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. hauseri</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. epidermidis</i>
MIC <sub>50</sub>	977.75	269.73	78.38	282.4	1011	964.59
MIC <sub>90</sub>	2878	3166	5238	2034	2356	3039

Garduño-Ramirez et al. (2001) reportaron para el extracto de n- hexano de las raíces de *P. radulifolium* inhibición máxima contra *Spahylococcus aureus* a una concentración mínima inhibitoria de 62 ppm, así como contra *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus micranthus* a una MIC de 1000 ppm. Por otra parte, el extracto de metanol requirió una MIC de 1000 ppm para inhibir en general a las bacterias mencionadas anteriormente. En el presente estudio el extracto acuoso de *P. paucicapitatum*, requirió una MIC<sub>90</sub> de 3166 ppm, para inhibir a *E. coli*.

Los extractos acuosos de las hojas de *Quercus resinosa*, *Q. grisea*, *Q. laeta* y *Q. obtusata* presentaron actividad contra las bacterias *E. coli* (ATCC 25922), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *P. mirabilis* (ATCC 7002), *P. hauseri* (ATCC 13315), *P. vulgaris* (ATCC 49132), *E. aerogenes* (ATCC 13048). En particular *Q. obtusata* inhibió al 100% todas las bacterias, así como *Q. laeta*, a excepción de *E. aerogenes* (Sanchez-Burgos et al., 2013). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, con el extracto de *P. paucicapitatum* evaluado sobre las mismas bacterias mencionadas anteriormente, y en donde se presentaron en general elevados porcentajes de inhibición a partir de la concentración de 2000 ppm, para las seis bacterias.

Mishra y Padhy (2013), en un estudio con bacterias resistentes a múltiples fármacos, por sus siglas en inglés (MDR), que causan infecciones en el tracto

urinario, evaluaron extractos metanólicos de las hojas de 21 plantas del Este de la India, encontrando que solo 10 plantas controlaron a todos los patógenos. El rango de las MICs de los extractos requeridos para la inhibición máxima de *E. aerogenes*, *E.coli* y *P. mirabilis* fue de 670-9630 ppm; 670-9630 ppm y 1510-9639 ppm, respectivamente. En el presente estudio, se requirió de una MIC<sub>90</sub> de 2878, 3166 y 2034 ppm del extracto de *P. paucicapitatum* para inhibir a *E. aerogenes*, *E. coli* y *P. mirabilis*, respectivamente, concentraciones menores al rango máximo reportado por Mishra y Padhy (2013).

Rath y Padhy (2014), evaluaron el efecto de los extractos metanólicos de 26 especies de plantas de la India en bacterias uropatogénicas MDR . Los resultados mostraron que *Cinnamomum zeylanicum* y *Curcuma longa* fueron las mejores especies para controlar todos los patógenos estudiados. *C. zeylanicum* requirió de MICs de 3410 ppm, 3410 ppm y 9630 ppm, para inhibir a *E. aerogenes*, *E. coli* y *P. mirabilis*, respectivamente, mientras que *C. longa* requirió de MICs de 3410 ppm, 1510 ppm y 4270 ppm para inhibir a *E. aerogenes*, *E. coli* y *P. mirabilis*, respectivamente. En el presente estudio se utilizaron concentraciones inferiores del extracto de *P. paucicapitatum* para alcanzar la MIC<sub>90</sub> en las mismas bacterias estudiadas, a excepción de *E. coli* comparada con *C. longa*.

La actividad inhibitoria mostrada por *P. paucicapitatum* sobre las bacterias evaluadas, podría atribuirse a la presencia de los compuestos identificados: Ethyl iso-allocholate; Imidazole-4-carboxylic acid, 2-fluoro-1-methoxymethyl-, ethyl ester y, Tetraacetyl-d-xylonic nitrile, los cuales se han reportado con actividad antimicrobial, anticancer, antiviral, anti-HIV, antiprotozoal, y antioxidante (Haider et al., 2016; Narasimhan et al., 2010; Eto et al., 2000). Además de los fenoles y flavonoides presentes en el extracto, los cuales todos en conjunto, producen una interacción sinérgica, que le da al extracto la capacidad antibacterial. El mecanismo de acción de los compuestos identificados en el corno y que causan inhibición bacterial no es conocido. Sin embargo, el mecanismo de los polifenoles contra los patógenos está claramente demostrado, de que inhiben las señales extracelulares de proliferación de las

células (Yang et al., 2009) y producen inhibición enzimática a través de la oxidación de compuestos (Rodríguez-Pedroso et al., 2012).

En el presente estudio se han identificado y se dan a conocer los compuestos bioactivos que le confieren a los cormos de *P. paucicapitatum* la actividad biológica. Lo anterior confirma los usos que tradicionalmente los habitantes de Ixtlán de Juárez, Oaxaca han dado a los cormos, al consumirlos para aliviar los malestares provocados por la diabetes, úlceras gástricas y para cicatrización de heridas. Los componentes bioactivos del extracto del corno de *P. paucicapitatum* mostraron una elevada efectividad para el control de las bacterias uropatógenicas, que podría incluir a bacterias resistentes a múltiples fármacos. Por lo cual se recomienda continuar con investigaciones para el desarrollo de fármacos a partir del extracto de esta planta, lo cual sería una alternativa en la lucha contra bacterias MDR, que se han convertido en un problema de salud pública, principalmente en países en vías de desarrollo. Este es el primer reporte científico de actividad antibacteriana, así como de composición química del extracto acuoso del corno de *P. paucicapitatum*.

## CONCLUSIONES

La infusión del cormo de *P. paucicapitatum* del sitio Rancho Texas presento actividad hipoglucémica en ratones C57BL/6.

Los extractos acuosos de los cormos de *P. paucicapitatum* de los sitios Cuachirindó y Rancho Texas de la Sierra Norte de Oaxaca, presentaron actividad anti-inflamatoria en células HT-29.

El extracto del cormo de *P. paucicapitatum* del sitio Rancho Texas inhibió el desarrollo de seis bacterias en un rango de MIC<sub>90</sub> de 2034 a 5238 ppm, por lo que representa una alternativa para ser utilizado como un fármaco botánico, que sustituya el uso de las drogas sintéticas. Son necesarias más investigaciones para la purificación de compuestos activos y la reducción de las concentraciones utilizadas para el control de los patógenos, además, determinar la toxicidad y los efectos colaterales de los compuestos activos del extracto para desarrollar nuevos productos con mayor eficiencia para el control de las bacterias resistentes a múltiples fármacos.

En los cormos medianos se identificaron siete y cuatro compuestos para los sitios Cuachirindó y Rancho Texas, respectivamente, y en los cormos grandes en ambos sitios se identificaron cinco compuestos.

En las infusiones de *P. paucicapitatum* se encontraron Fructooligosacáridos, compuestos a los cuales se les atribuye el efecto hipoglucémico obtenido a las 14 semanas del experimento. Este es el primer reporte científico de actividad hipoglucémica, anti-inflamatoria y antibacterial, así como de composición química del extracto y las infusiones de los cormos de *P. paucicapitatum*.



## REFERENCIAS

- Abbas A. K., Litchman A. H., Pillai, S., 2008. Inmunología celular y molecular. 6ª edición. ELSEVIER (ed). España. 288-289.
- Abubacker, M.N., Devi P.K., 2014. In vitro antifungal potentials of bioactive compound oleic acid,3-(octadecyloxy) propyl ester isolated from *Lepidagathis cristata Willd.* (Acanthaceae) inflorescence. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4, S661- S664.
- Ainsworth, E.A., Gillespie, K.M., 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. Nature Protocols, 2, 875–877.
- Akhtar, M.S., y Ali, M.R., 1985. Study of hypoglycaemic activity of *Cumminum nigrum* seeds in normal and alloxan diabetic rabbits. *Planta Medica* 51, 81- 85.
- Alarcón, F., Román, R., Jiménez, M., Reyes, R., Gonzalez, B., Flores, J.L., 1997. Effects of tree Mexican medicinal plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *J. Ethnopharmacol.* 55, 171-177.
- Alarcón-Aguilar, F.J., Jiménez-Estrada, M., Reyes-Chilpa, R., Román-Ramos, R., 2000. Hypoglycemic effect of extracts and fractions from *Psacalium decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.* 72, 21-27.
- Alarcon-Aguilar, J.J., Fortis-Barrera, A., Angeles-Mejia, S., Banderas-Dorantes, T.R., Jasso-Villagomez, E.I., Almanza-Perez, J.C., Blancas-Flores, G., Zamilpa, A., Diaz-Flores, M., Roman-Ramos, R., 2010 Anti-inflammatory and antioxidant effects of a hypoglycemic fructan fraction from *Psacalium peltatum* (H.B.K.) Cass. in streptozotocin-induced diabetes mice. *J. Ethnopharmacol.* 132, 400–407.
- Anaya, A. L., Hernández, B. E., Torres, B. A., León, C. J., Jiménez, E. M. J., 1996. Phytotoxicity of cacalol and some derivatives obtained from the roots of *Psacalium decompositum* (A. GRAY) H. Rob and Brettell (Asteraceae), Matarique or Maturin. *J. Chem. Ecol.* 22, 393-406.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., Özyurt, D., 2007. "Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay." *Molecules* 12, 1496-1547.

- Argueta, A., Martínez, L., Cano, A., Rodarte, M.E., 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista, Tomo II, México., DF, pp. 985–990.
- Barkley, T. M., Clark, B. L., Fuston. A. M., 1996. The segregate genera of *Senecio* sensu lato and *Cacalia* sensu lato (Asteraceae: Senecioneae) in Mexico and Central America. 613–620. *In* Hind, D. J. N. and H. J. Beentje, editors. Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew. 1994. (D. J. N. Hind, Editor-in-Chief). Vol. 1. Royal Botanic Gardens Kew.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT, Food Sci. Technol.* 28, 25–30.
- Burgueño-Tapia, E., Hernandez-Carlos, B., Joseph-Nathan, P., 2006. DFT, solution, and crystal conformation of eremophilanolides. *J. Mol. Struct.* 825, 115-123.
- Burgueño-Tapia, E., Joseph-Nathan, P., 2008. Absolute configuration of eremophilanoids by vibrational circular dichroism. *Phytochemistry* 69, 2251–2256.
- Calderón-Jaimes, E., Casanova-Román, G., Galindo-Fraga, A., Gutiérrez-Escoto, P., Landa-Juárez, S., Moreno-Espinosa, S., 2013. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones en vías urinarias: un enfoque multidisciplinario para casos no complicados (In spanish). *Bol. Med. Hosp. Infantil Mex.* 70, 3-10.
- Contreras, C., Román, R., Pérez, C., Alarcón, F., Zavala, M., Pérez, S., 2005. Hypoglycemic activity of a new carbohydrate isolated from the roots of *Psacalium peltatum*. *Chem.Pharm.Bull.* 53, 1408-1410.
- Contreras-Weber, C.C., Perez-Gutierrez, S., Alarcon-Aguilar, F.J., Roman-Ramos, R., 2002. Antihyperglycemic effect of *Psacalium peltatum*. *In: Proceedings of the Western Pharmacol. Soc.* 45, 134-236.
- Correa, J., Romo, J., 1996. The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray. Structures of maturin, maturinin, maturon and maturinone. *Tetrahedron* 22, 685-691.
- Delzenne, N.M., Kok, N., 2001. Effects of fructan-type prebiotics on lipid metabolism of inulin and oligofructose modulate lipid metabolism. *Am J. Clin. Nutr.* 73: 456-458.

- Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. Recovered on March 20, 2016. Available from <https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/search>
- Eto, H., Kaneko, Y., Sakamoto, T., 2000. New antifungal 1, 2, 4-triazoles with difluoro (heteroaryl) methyl moiety. *Chem. Pharm. Bull.* 48, 982-990.
- Fernández-Palomares, R., 2013. Modulación de la microbiota intestinal: efecto de los prebióticos y probióticos en la prevención y tratamiento del Síndrome metabólico. *Universitat Oberta de Catalunya*. pp. 1-22.
- FID, 2013. International Diabetes Federation. Atlas de Diabetes. 5<sup>th</sup> edición. Disponible en: <http://www.idf.org/about-diabetes>
- Finney, D.J., 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, London.
- Fogh, J., 1975. Human tumor cells in vitro. *New York and London: Plenum Press* 115-159.
- Franck, A. 2006. Oligofructose-enriched inulin stimulates calcium absorption and bone mineralization. *Nutrition Bulletin* 31, 341-345.
- Fruchart, J.C., Duriez, P., 2006. Mode of action of fibrates in the regulation of triglyceride and HDL-cholesterol metabolism. *Drugs Today (Barc)* 42, 39-64.
- Furst, D., Caldwell, J., 2002. Guidelines for the treatment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 61, 474,477.
- Gamboa-Gómez, C.I., Rocha-Guzmán, N.E., Gallegos-Infante, J.A., Moreno-Jiménez, M.R., Vázquez-Cabral, B.D., González-Laredo, R.F., 2005. Plants with Potential use on Obesity and its Complications. *EXCLI JOURNAL* 14, 809-831.
- Garduño, M.L., Delgado, G., 2003. New eremophilanoids from the roots of *Psacalium radulifolium*. Hypoglycemic, antihyperglycemic and anti-oxidant evaluations. *Rev. Soc. Química Mex.* 47, 160-166.
- Garduño-Ramírez, M.L., Trejo, A., Navarro V., Bye, R., Linares, E., Delgado, G., 2001. New modified eremophilanes from the roots of *Psacalium radulifolium*. *J. Nat. Prod.* 64, 432-435.
- Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva, World Health Organization, 2012.

- Goel, G., Makkar, H. P., Francis, G., Becker, K., 2007. Phorbol Esters: Structure, Biological Activity, and Toxicity in Animals. *Int. J. Toxicol.* 26, 279-288.
- Goodman y Gilman. 2007. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 11a edición. México. Capítulo 26.
- Gupta, K., Hooton, T.M., Naber, K.G., Wullt, B., Colgan, R., Miller, L.G., Soper, D.E., 2011. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Infect. Dis.* 52, 103-120.
- Haider, M. H., Hadi, H.I., Ibraheem, O.A. 2016. Antimicrobial Activity and Spectral Chemical Analysis of Methanolic Leaves Extract of *Adiantum Capillus-Veneris* Using GC-MS and FT-IR Spectroscopy. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 8, 369-385.
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M.G., Romani, A., 2005. Rapid test to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. Dry beans. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3053-3056.
- Heinrich, M. 1996. *Compositae: Biology and Utilization*; Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, 1994; Hind, D. J. N. (Ed.); Royal Botanic Gardens, Kew. 2, 475-503.
- Hendry, G. 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructans a climatological biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist* Trust 123, 3-14.
- Hernández-Galicia, E., Aguilar-Contreras, A., Aguilar-Santamaría, L., Roman-Ramos, R., Chávez-Miranda, A.A., Garcia-Vega, L.M., Flores-Saenz, J.L., Alarcón- Aguilar, F.J. 2002. Studies on hypoglycemic activity of Mexican medicinal plants. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 45, 118-124.
- Inman, W.D., Luo, J., Jolad, S.D., King, S.R., Cooper, R., 1999. Antihyperglycemic sesquiterpenes from *Psacalium decompositum*. *J. Nat. Prod.* 62, 1088-1092.
- Jasso de Rodríguez, D., Trejo-González, F.A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M.L. V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F.D., Peña-Ramos, F.M., 2015. Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Ind. Crops Prod.* 75, 150-158.
- Jiménez, M., Lozano, C., Valdés, M.J., León, J.R., Alarcón, G., Sveshtarova, B., 1992. Actividad antimicrobiana del cacalol y sus derivados (In Spanish). *Rev. Latinoam. Quim.* 23, 1-22.

- Jimenez-Estrada, M., Merino-Aguilar, H., Lopez-Fernandez, A., Rojano-Vilchis, N.A., Roman-Ramos, R., Alarcon-Aguilar, F.J., 2011. Chemical characterization and evaluation of the hypoglycemic effect of fructooligosaccharides from *Psacalium decompositum*. J. Complement. Integr. Med. 8, 1413-1423.
- Juárez-Vázquez, M.D.C., Alonso-Castro, A.J., Rojano-Vilchis, N., Jiménez-Estrada, M., García-Carrancá, A., "Maturin acetate from *Psacalium peltatum* (Kunth) Cass. (Asteraceae) induces immunostimulatory effects *in vitro* and *in vivo*," Toxicology in Vitro, 27, 1001–1006, 2013.
- Kuklinski, C., 2000. Isoprenoides, Aceites esenciales, En: Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural (In Spanish). Ed. Omega. Barcelona, España. pp. 112-131.
- Lane, P.H., 1997. Age of onset of streptozotecin diabetes determines the renal structural response in the rat. Pediatric Research, 41, 912-915.
- Lesuffleur, T., Barbat, A., Dussaulx, E., Zweibaum, A., 1990. Growth adaptation to methotrexate of HT-29 human colon carcinoma cells is associated with their ability to differentiate into columnar absorptive and mucus-secreting cells. Cancer Res. 6334-6343.
- Linares E., Bye, R., 1987. A study of four medicinal plant complexes of northern México and adjacent United States. J. Ethnopharmacol. 19, 153-83.
- Louet, J.F., Le May, C., Pégorier, J.P., Decaux, J.F., Girard, J., 2001. Regulation of liver carnitine palmitoyltransferase I gene expression by hormones and fatty acids. Biochemical Society Transactions 29, 310-316.
- Lozoya, X., 1987. Medicina Tradicional y Salud en México. Gac Med México 123, 281-285.
- Malaguarnera, M., Vacante, M., Antic, T., Giordano, M., Chisari, G., Acquaviva, R., Mastrojeni, S., Malaguarnera, G., Mistretta, A., Li Volti, G., Galvano, F., 2012. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non-alcoholic steatohepatitis. Dig. Dis. Sci. 57, 545-553.
- Malek. M., Khamseh, M.E., Aghili, R., Emami, Z., Najafi, L., Baradaran, H.R., 2012. Medical management of diabetic retinopathy: an overview. Arch. Iran Med. 15, 635-640.
- Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M.C., 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. LWT – Food. Sci. Technol. 31, 694-698.

- Merino-Aguilar, H., Arrieta-Baez, D., Jiménez-Estrada, M., Magos-Guerrero, G., Hernández-Bautista, R.J., Susunaga-Notario, A.D.C., Hernandez-Perez, E., Lopez-Díazguerrero, N.E., Almanza-Perez, J.C., Blancas-Flores, G., Román-Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F.J., 2014. Effect of fructooligosaccharides fraction from *Psacalium decompositum* on inflammation and dyslipidemia in rats with fructose-induced obesity. *Nutrients*. 6, 591-604.
- Mishra, M. P., Padhy, R. N. 2013., In vitro antibacterial efficacy of 21 Indian timber-yielding plants against multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection. *Osong Public Health Res. Perspect*. 4, 347-357.
- Mishra, M.P., Rath, S., Swain, S.S., Ghosh, G., Das, D., Padhy, R.N. 2015., In vitro antibacterial activity of crude extracts of 9 selected medicinal plants against UTI causing MDR bacteria. *J. King Saud Univ. Sci*. In press.
- Moreno-Jimenez, M. R., Trujillo-Esquivel, F., Gallegos-Corona, M. A., Reynoso-Camacho, R., González-Laredo, R. F., Gallegos-Infante, J. A., Ramos-Gomez, M., 2015. Antioxidant, anti-inflammatory and anticarcinogenic activities of edible red oak (*Quercus spp.*) infusions in rat colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine. *Food Chem. Toxicol*. 80, 144-153.
- Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. 2001. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia* 44, 14-21.
- Mourtzinou, I., Makris, D.P., Yannakopoulou, Kalogeropoulos, N., Michali, I., Karathanos, V.T., 2008. Thermal stability of anthocyanin extract of *Hibiscus sabdariffa* L. in presence of beta-cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 10303–10310.
- Narasimhan, B., Sharma, D., Kumar, P., 2010. Biological importance of imidazole nucleus in the new millennium. *Med. Chem. Res*. 20, 1119-1140.
- Narayana K., Reddy, R., Sripal, M., Chaluvadi, M.R., Krishna, D.R. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical, effects and therapeutic potential, *Indian J. Pharmacol*. 33, 2-16.
- Olivera-González, S., De Escalante-Yangüela, B., Velilla-Soriano, C., Amores-Arriaga, B., Martín-Forteza, P., Navarro-Aguilar, M.E. 2010. Hepatotoxicidad por metformina. *Med Intensiva*. 34, 483-7
- OMS 1999. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, World Health Organization, 1999 (OMS/NCD/NCS/99.2).

- OMS, 2014. World Health Organization. Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country, 2000-2012. Geneva, OMS, 2014.
- OMS, 2015. World Health Organization. Resistencia a los antimicrobianos. Abril 2015. <http://www.OMS.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- OMS, 2016. World Health Organization 2016. Informe Mundial sobre la Diabetes. OMS/NMH/NVI/16.3. <http://www.OMS.int/diabetes/global-report/en/>
- Potter JD.1999. Colorrectal cancer: molecules and populations. J. Natl. Cancer Inst. 91, 916-32.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramirez, L.S., Castaño, D.M., 2009. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal (In Spanish). Scientia et Technica 15, 263 - 268.
- Ramírez-Rueda, R.Y., Mojica-Ávil, D.N., 2014. Actividad antibacteriana de extractos de *Gnaphalium polycephalum* Michx contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*(In Spanish). Rev. Investig. Salud Univ. Boyacá 1, 63-71.
- Rath, S., Padhy, R.N. 2014. Monitoring *in vitro* antibacterial efficacy of 26 Indian spices against multi drug resistant urinary tract infecting bacteria. Integr. Med. Res. 133-141.
- Reagan-Shaw, S., Nihal, M., Ahmad, N., 2008. Dose translation from animal to human studies revisited. FASEB J. 22, 659-661.
- Reaven, G.M., 1995. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. Physiol Rev. 75, 473–86.
- Roberfroid, M.B., 1997. Health benefits of non-digestible oligosaccharides. Adv Exp. Med. Biol. 427, 211-219.
- Roberfroid. M., Delzenne, N., 1998. Dietary fructans. Annual Reviews of Nutrition 18, 117–143.
- Rodríguez-Pedroso, A.T., Ramírez-Arrebato, M.A., Bautista-Baños, S., Cruz-Triana, A., Rivero, D., 2012. Actividad antifungica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (In Spanish). Revista Científica UDO Agrícola. 12, 91–96.

- Roglic, G., Unwin, N., Bennett, P.H., Mathers, C., Tuomilehto, J., Nag, S., 2005. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. *Diabetes Care* 28, 2130–2135.
- Romo de Vivar, A., Pérez-Castorena, A.L., Arciniegas, A., Villaseñor, J.L., 2007. Secondary metabolites from Mexican species of the Tribe senecioneae (Asteraceae). *J. Mex. Chem. Soc.* 51, 160–172.
- Romo, J., Joseph, N.P., 1964. The constituents of *Cacalea decomposita* A. Gray: Structures of cacalol and cacalome. *Tetrahedron*. 20, 2331-2337.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P., 2013. An overview on the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Sci. Technol.* 50, 1-16.
- Sabán, J., Fabregate, M., De la Torre, N., Sánchez, O., Bernal, E., 2012. Control Global del Riesgo Cardiometabolico. Capítulo 11. Control Global del Riesgo Cardiometabolico. En la diabetes Mellitus como enfermedad sistemática. Díaz de santos ed. Madrid. 303-317.
- Sanchez-Burgos, J.A., Ramirez-Mares, M.V., Larrosa, M.M., Gallegos-Infante, J.A., Gonzalez-Laredo, R.F., Medina-Torres, L., Rocha-Guzmán, N.E., 2013. Antioxidant, antimicrobial, antitopoisomerase and gastroprotective effect of herbal infusions from four *Quercus* species. *Ind. Crops Prod.* 42, 57-62.
- Sangeetha, P.T., Ramesha, M.N., Prapullaa, S.G., 2005. Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides. *Trends in Food Sci. Technol.* 16, 442-457.
- Saravanan, P., Chandramohan, G., Mariajancyrani, J., Shanmugasundaram, P., 2014. GC-MS Analysis of Phytochemical Constituents in Ethanolic Bark Extract of *Ficus Religiosa Linn.* *Int. J. Pharm. Sci.* 6, 457-460.
- Satoh J., Takahashi K., Takisawa Y., Ishihara H., Hirai M., Katagiri H., Hinokio Y., Suzuki S., Tsuji I., Oka Y. 2005. Secondary sulfonylurea failure: comparison of period until insulin treatment between diabetic patients treated with glicazide and glibenclamide. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 70, 291-297.
- Senn, J.J., Klover, P.J., Nowak, I.A., Zimmers, T.A., Koniaris, L.G., Furlanetto, R.W., Mooney, R.A., 2003. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 278, 13740-13746.



- Sheela, D., Uthayakumari, F., 2013. GC-MS Analysis of Bioactive Constituents from Coastal Sand Dune Taxon–*Sesuvium Portulacastrum* L. *Bioscience Discovery* 4, 47-53.
- SINAVE/DGE/SALUD. 2009. Información epidemiológica de morbilidad. Anuario 2009, Versión ejecutiva, México, D.F. Secretaría de Salud. p. 127. Available from: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/publicaciones/2011/anuarios/I EPI DE MORBI A 2009 V EJECUTIVA.pdf>.
- Socorro, A., Sepúlveda, D., Llorente, P., 2003. Antidiabéticos orales en el anciano. *Médicos de Familia*. 5, 39-45.
- Soumyanath, A., 2006. *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants* Taylor and Francis Group Editors. 1a Edición Boca Raton Florida. Pp. 7-10.
- Sudha, T., Chidambarampillai, S., Mohan, V. R., 2013. GC-MS Analysis of Bioactive Components of Aerial Parts of *Kirganelia Reticulata* Poir (Euphorbiaceae). *J. Curr. Chem. Pharm. Sci.* 3, 113-122.
- Sun, S., Ji, Y., Kersten, S., Qi, L., 2012. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annu Rev. Nutr.* 21, 261-286.
- Takahashi, M., Ikemoto, S., Ezaki, O., 1999. Effect of the fat/carbohydrate ratio in the diet on obesity and oral glucose tolerance in C57BL/6J mice. *J Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo)* 45, 583–593.
- Tamez, H.E., Hernández, N.I., Gómez, M.D., Tamez, A.L., Forsbach, G. 2003. Meglitinidas en el control del paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Med. Int. Mex.* 19, 193-196.
- Towbin, H., Staehelin, T., Gordon, J., 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets. Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 4350-4354.
- Tropicos 2013. Tropicos recovered on November 22, 2013. *Ann. Missouri Bot. Garden* available from <http://www.tropicos.org/Name/50336166>.
- Van Meerloo, J., Kaspers, G.J., Cloos, J., 2011. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods Mol. Biol.* 731, 237–245.
- Vijn, I., Smeekens, S. 1999. Fructan: More Than a Reserve Carbohydrate Plant *Physiology* 120, 351-359.

- Vithya, E. D., Suresh, S. N., Sagadevan, P., Rathish, K. S., 2014. Studies on Phytochemical Composition and Anticancer Potential of Methenolic Leaf Extract of *Tecomella Undulata*. J. Pharm. Biol. Res. 2, 148-152.
- Vivot, E. P., Sánchez, C., Cacik, F., Sequin, C., 2012. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). Ciencia, Docencia y Tecnología 45, 131-146.
- Yang, C.S., Wang, X., Lu, G., Picinich, S.C., 2009. Cancer prevention by tea: animal studies, Molecular mechanisms and human relevance. Nat. Rev. Cancer. 9, 429–439.
- Yun, J.W., 1996. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application Enzyme and Microbial. Technology 19, 107-117.
- Zekeya, N., Chacha, M., Shahada, F., Kidukuli, A., 2014. Analysis of phytochemical composition of *Bersama abyssinica* by gas chromatography–mass spectrometry. J. Pharmacogn. Phytochem. 3, 246-252.