

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Comparación y análisis de extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para su uso en el desarrollo de alimentos funcionales para diabéticos tipo 2

T E S I S

Por:

MARÍA GUADALUPE RODRÍGUEZ ACOSTA

Presentada como Requisito Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Septiembre, 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Comparación y análisis de extractos de *Psittacanthus calyculatus* y
Phoradendron tomentosum para su uso en el desarrollo de alimentos
funcionales para diabéticos tipo 2

TESIS

Presentada por:

MARÍA GUADALUPE RODRÍGUEZ ACOSTA

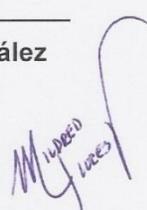
Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito

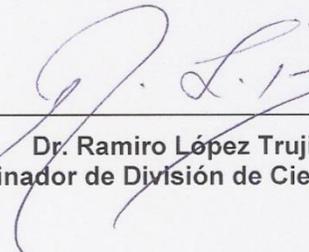
Parcial para obtener el título de:

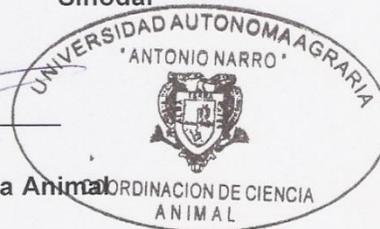
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS


M.C. María Hernández González
Presidente


Dra. Catalina Pérez Berumen
Sinodal


M.C. Mildred Inna Flores Verástegui
Sinodal


Dr. Ramiro López Trujillo
Coordinador de División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.

Septiembre, 2013

Agradecimientos.

Agradezco a **Dios** por haberme dado entendimiento y paciencia para llegar hasta aquí, por poner en mi camino a las personas correctas en su tiempo perfecto confiando en que seguirá conmigo a donde vaya.

A mi **Alma Mater** por darme la oportunidad de lograr una carrera profesional y por tantas experiencias que aquí viví.

A la **M.C. María Hernández González** por haberme escuchado y haber creído en mí, por todo su apoyo, por compartir sus conocimientos conmigo, por su confianza y amistad, ¡Muchas gracias!

A la **M.C. Mildred Inna Flores Verástegui** por todo su apoyo, por sus consejos, por el tiempo que dedicó en mi investigación, por sus ánimos, por su amistad y por compartirme sus conocimiento, ¡Muchas gracias!

A la **Doctora Catalina María Pérez Berumen** por todo su apoyo, por haberme recibido en su laboratorio y los deliciosos pasteles compartidos, por el tiempo dedicado a esta investigación, por su amistad y confianza, por compartir sus conocimientos conmigo, ¡Muchas gracias!

A **Mi Familia**, por haber sido pacientes conmigo y a pesar de todo seguir a mi lado motivándome a continuar con mis esfuerzos para lograr la meta que me propuse hace años. ¡Los amo, gracias!

A todos los laboratorios y laboratoristas que me apoyaron proporcionándome reactivos y equipo infinitas gracias. Al **Doctor Humberto Reyes**, al **Doctor Juan Manuel Mtz. Reyna** y al **Doctor José Ángel Villarreal** por su ayuda para la identificación de las plantas. Al **Sr. Víctor García**, al **Doctor Edmundo Rodríguez**, a la **Doctora Érika**, a la **Doctora Hermila**, a la **Doctora Lourdes Morales**, al **Doctor Bah**, al **Doctor Mario Cruz** y al **Doctor Ramiro López** gracias por todas las facilidades brindadas para la realización de este proyecto.

A todos **mis amigos** y a **mis primos** por haber estado conmigo durante todo este proceso, por su ánimos y buenas vibras, los quiero, ¡Muchísimas gracias!

Dedicatoria

Dedico cada uno de mis logros a mi **Dios**, agradeciendo cada aprendizaje que obtengo en las diferentes etapas de mi vida.

Este trabajo lo dedico a **mi familia**, por ellos esta investigación, para poder hacer frente a cada reto que presenta la diabetes y mejor aún para prevenirla.

A mis padres: **Jesús Rodríguez Ontiveros** y **María de Jesús Acosta**, sin su amor y apoyo esto hubiera sido difícil, los amo.

A mis hermanos: **Natalia** y **Juan Carlos**, gracias por alegrarme la vida y enseñarme a ser una mejor persona, los amo.

A mis primos: **Ghost, Ana, Irma, Helty, Iván, Uli, Lauris, Lili, Viris, Lalo, Assanty, Luis Ernesto, Vale, Angélica, Luis Ángel, Edgar, Orlando...** en fin a todos mi primos y primas. Por supuesto a mis amiguitos **Kristian, Freya, Gael** y **Braulio**.

A todos mis **tíos** y **tías**, mil gracias por apoyarme en mi carrera, por hacerme reír, por todo el amor que me dan, por enseñarme lo importante que es la familia.

A mis amigos: **Gloria, Irasema, Berna, Karla, María, Olaf, Miriam, Ernesto, Iván, Jorge, Daniel, Bety, Laura, Salvador, Ulises, Marcos, Vale, Isa, Érika, Alejandro, Diego, Hermilo, Clarita, Alejandra...** muchas gracias por acompañarme en este proceso, por hacerme reír, por compartirme sus conocimientos, por ayudarme, por todo lo que hemos vivido juntos y los que nos queda por vivir.

Al **Padre Pantoja** y al **Padre Ray**, gracias por su apoyo y guía espiritual, gracias por enseñarme a ser valiente y servir a los demás.

Índice general

Contenido

RESUMEN.....	VII
CAPÍTULO 1: Introducción, justificación, hipótesis y objetivos.	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Justificación.	3
1.3. Hipótesis.....	6
1.3.2. Hipótesis nula.	6
CÁPITULO 2: Marco teórico.	7
2.1. Diabetes mellitus.	7
2.1.1. Diabetes mellitus tipo 2.....	7
2.1.2. La diabetes en México.	8
2.1.3. Hipoglucemiantes orales.....	10
2.2. Principios fitoquímicos.	13
2.3. Plantas y compuestos hipoglucemiantes.	15
2.4. Identificación de los muérdagos <i>Phoradendron tomentosum</i> y <i>Psittacanthus calyculatus</i>	21
2.4.1. Generalidades de <i>Phoradendron tomentosum</i>	22
2.4.1.2. Identificación taxonómica de <i>Phoradendron tomentosum</i>	24
2.4.2. Generalidades de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	25
2.4.2.1. Identificación taxonómica de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	28
2.4.3. Distribución geográfica de plantas parásitas y epífitas en México.	28
2.5. Fenoles y flavonoides.	30
2.6. Alimentos especiales.	34
CÁPITULO 3: Materiales y métodos.	37
Etapa 1. Recolección de la muestra.	37
Etapa 2. Extracción de componentes constitutivos.....	37
Etapa 2.1. Secado de los extractos obtenidos por infusión.	38

Etapa 3. Caracterización cualitativa de los compuestos constitutivos de los extractos obtenidos.	38
3.1. Reacción cualitativa para Fenoles.	38
3.2. Reacción cualitativa para Flavonoides.....	39
3.3. Reacción cualitativa para Leucoantocianidinas.	39
3.4. Reacción cualitativa para Glucósidos cianogénicos.	39
3.5. Reacción cualitativa para Esteroles (Reacción de Lieberman-Burchard).	39
Etapa 4. Cuantificación y determinación de compuestos principales de los extractos.	40
4.1. Determinación de compuestos fenólicos totales en extractos de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	40
4.2. Determinación de flavonoides totales en extractos de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	41
Etapa 5. Prueba de infrarrojo en extractos de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	42
CÁPITULO 4: Resultados y discusiones.	43
Resultados sobre la recolección de la muestra.	43
Resultados sobre extracciones y evaluación de componentes constitutivos.	44
Resultados de la prueba de infrarrojo en extractos de <i>Psittacanthus calyculatus</i> y <i>Phoradendron tomentosum</i>	57
Resultados de la determinación de flavonoides totales.	57
CAPÍTULO 5: Conclusiones.	59
Bibliografía.....	61
Citas electrónicas.	64
Anexos.	67
Análisis de Varianza de la determinación de compuestos fenólicos totales en extractos de <i>Phoradendron tomentosum</i> y <i>Psittacanthus calyculatus</i>	67
Análisis de Varianza de la determinación de flavonoides totales en extractos de <i>Phoradendron tomentosum</i> y <i>Psittacanthus calyculatus</i>	67

Índice de figuras

Título de la figura.	Página
Fig. 1. Mapa de hipoglucemiantes orales.	12
Fig. 2. Ejemplos representativos de compuestos con actividad hipoglucemiante. ...	17
Fig. 3. Compuestos identificados en la fracción MeOH-soluble del extracto acuoso de una muestra de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	20
Fig. 4. <i>Phoradendron tomentosum</i> y hospedero.	23
Fig. 5. <i>Psittacanthus calyculatus</i> y hospedero.	27
Fig. 6. Distribución de plagas y enfermedades 2011; plantas parásitas y epífitas. .	29
Fig. 7. Espectro infrarrojo del extracto acuoso de <i>Ph. tomentosum</i>	49
Fig. 8. Espectro infrarrojo del extracto metanólico de <i>Ph. tomentosum</i>	50
Fig. 9. Espectro infrarrojo del extracto etanólico de <i>Ph. tomentosum</i>	51
Fig. 10. Espectro infrarrojo del extracto acuoso de <i>P. calyculatus</i>	53
Fig. 11. Espectro infrarrojo del extracto metanólico de <i>P. calyculatus</i>	54
Fig. 12. Espectro infrarrojo del extracto etanólico de <i>P. calyculatus</i>	55
Fig. 13. Comparación de medias del contenido fenólico total en los extractos de <i>Ph. tomentosum</i> y <i>P. calyculatus</i>	56
Fig. 14. Comparación de medias del contenido de flavonoides totales de los extractos de <i>Ph. tomentosum</i> y <i>P. calyculatus</i>	57

Índice de tablas

Título de la tabla.	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Phoradendron tomentosum</i>	25
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Psittacanthus calyculatus</i>	29
Tabla 3. Resultados de pruebas de identificación de fitoquímicos en <i>Ph. tomentosum</i> en hojas y extractos obtenidos por arrastre de vapor.	44
Tabla 4. Resultados de pruebas de identificación de fitoquímicos en <i>P. calyculatus</i> en hojas y extractos obtenidos por arrastre de vapor.	45
Tabla 5. Resultados de pruebas de compuestos fitoquímicos en hojas y extractos de infusión de <i>Ph. tomentosum</i>	46
Tabla 6. Resultados de pruebas de compuestos fitoquímicos en hojas y extractos de infusión de <i>P. calyculatus</i>	46
Tabla 7. Resultados del contenido de fenólicos totales en <i>P. calyculatus</i> y <i>Ph. tomentosum</i>	58
Tabla 8. Resultados del contenido de flavonoides totales <i>P. calyculatus</i> y <i>Ph. tomentosum</i>	59

Índice de anexos

Anexo.	Página
Análisis de Varianza de la determinación de compuestos fenólicos totales en extractos de <i>Phoradendron tomentosum</i> y <i>Psittacanthus calyculatus</i>	67
Análisis de Varianza de la determinación de flavonoides totales en extractos de <i>Phoradendron tomentosum</i> y <i>Psittacanthus calyculatus</i>	67

Resumen

Phoradendron tomentosum y *Psittacanthus calyculatus* son plantas semihepífitas conocidas comúnmente como muérdagos y se alojan en diferentes especies de árboles, entre ellas los mezquites. Estas plantas son utilizadas en la medicina tradicional mexicana para la preparación de infusiones, como un tratamiento alternativo para la diabetes. En la presente investigación se evaluaron y compararon extractos acuosos, metanólicos y etanólicos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus* alojados en *Prosopis glandulosa* y *Prosopis laeviagata*, respectivamente. Se probaron dos medios de extracción: destilación por arrastre de vapor y por infusión, con agua, metanol y etanol. Se cualificó el contenido de compuestos de interés (determinando esteroides, glucósidos cianogénicos, leucoantocianidinas, flavonoides y fenoles para *Ph. tomentosum* y esteroides, leucoantocianidinas, flavonoides y fenoles para *P. calyculatus*). Se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos totales resultando para *Ph. tomentosum* 0.535mg/mL en el extracto acuoso, 0.455mg/mL en el metanólico y 0.480mg/mL en el etanólico; y de flavonoides totales en el extracto acuoso 2.033mg/mL, 1.500mg/mL en el metanólico y 2.007mg/mL en el etanólico. Para *P. calyculatus* el contenido de compuestos fenólicos totales en los extractos acuoso, etanólico y metanólico fue de 0.520mg/mL, 0.505mg/mL y 0.460mg/mL respectivamente. En cuanto a los flavonoides totales, el contenido en el extracto acuoso fue de 1.217mg/mL, 0.267mg/mL en el metanólico y 0.500mg/mL en el etanólico. Los espectros de infrarrojo (FTIR-ATR) confirmaron la presencia de grupos funcionales correspondientes a hidroxilos fenólicos, flavonoides, monosacáridos y posiblemente antocianidinas (*P. calyculatus*) y flavonas, flavonoles e isoflavonas (*Ph. tomentosum*). El alto contenido de antioxidantes en los extractos de estas plantas posibilita su utilización en el desarrollo de alimentos funcionales para diabéticos tipo 2.

Palabras claves: *Phoradendron tomentosum*, *Psittacanthus calyculatus*, diabetes tipo 2, fenoles, flavonoides, hipoglucemiantes naturales.

CAPÍTULO 1: Introducción, justificación, hipótesis y objetivos

1.1. Introducción

La diabetes mellitus es un síndrome el cual afecta más y más personas en el mundo. El término diabetes mellitus describe un desorden metabólico de múltiples etiologías y es caracterizada por la hiperglucemia crónica con alteraciones de hidratos de carbono, grasas y metabolismo de proteínas como resultado de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambos (WHO, 1999; citado por Andrade-Cetto & Heinrich Michael, 2005). El tratamiento de la diabetes mellitus se realiza fundamentalmente a base de tres factores: dieta, insulina y medicamentos hipoglucemiantes; es incuestionable el hecho de que la dieta tiene un papel muy importante en el tratamiento de la diabetes mellitus, sin embargo, en la mayoría de los casos es incapaz por sí sola de normalizar los disturbios en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas característicos de este padecimiento, por lo que se hace necesario recurrir a medicamentos (Alarcón A. F., 1990).

Desde una perspectiva etnofarmacológica, es importante entender que esta enfermedad es una en la interfaz de la medicina convencional y tratamientos locales (o tradicionales). Normalmente, los pacientes son diagnosticados en alguno de los centros de atención primaria de salud y los doctores en medicina en estos centros normalmente también prescriben los medicamentos apropiados. Sin embargo, una vez que el diagnóstico es hecho los pacientes frecuentemente recurren a curanderos locales o vendedores de productos a base de hierbas y otros productos de cuidados de salud. En algunos casos, pacientes usaron estos tratamientos en lugar del medicamento convencional, y complicaciones graves, incluyendo el aumento de las hospitalizaciones, cetoacidosis e hiperglucemia aguda, ocurrieron (Shane-McWhorter, 2001; citado por Andrade-Cetto & Heinrich Michael, 2005).

El tratamiento adecuado para la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) debe ser enfocado en el control metabólico y la prevención de sus complicaciones (Hernández-Galicia *et al*, 2005; citado por Romero-Cerecero *et al*, 2009).

En México es muy frecuente que pacientes, en adición al tratamiento farmacéutico, utilicen recursos alternativos para el control de su enfermedad. En la población mexicana, la herbolaria es el recurso alternativo más frecuentemente empleado por pacientes con diabetes tipo 2 (López-Argáez *et al.*, 2003; citado por Romero-Cerecero, O. *et al.*, 2009).

Se han realizado muchos estudios sobre las plantas hipoglucemiantes y una gran variedad de compuestos han sido aislados (alcaloides, glucósidos, flavonoides, terpenos, etc.), pero la principal problemática es el futuro desarrollo que estos conllevan dentro de la medicina clínica y especialmente fitomedicinas o suplementos nutricionales adecuados. En este contexto, Witters (2001) menciona que la droga moderna Metformina (una biguanida) es un derivado de un producto natural activo: la galegina, un aislado de la planta *Galega officinalis* L., la cual fue usada en tiempos medievales para curar la poliuria en personas diabéticas (Witters, 2001; citado por Andrade-Cetto, A. & Heinrich M., 2005).

Psittacanthus calyculatus y *Phoradendron tomentosum* aparecen dentro de un gran grupo de plantas, que aunque en menor grado, son utilizadas en México como una alternativa en el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Andrade-Cetto, A. & Heinrich M., 2005).

1.2. Justificación

La diabetes se reconoce como conjunto de trastornos heterogéneos que tienen como elementos comunes la hiperglucemia y la intolerancia a la glucosa. La diabetes mellitus está clasificada en cuatro tipos, en base a su etiología y a la presentación clínica del trastorno: diabetes tipo 1; tipo 2; Diabetes mellitus gestacional (DMG); y otros tipos específicos (dibetesatlas.org). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Diabetes Mellitus (DM) es el tercer problema de salud pública más importante en el mundo (medicosgeneralescolombianos.com). En prácticamente todos los países de ingresos altos, la diabetes está clasificada entre las causas principales de ceguera, insuficiencia renal y amputación de extremidades inferiores. La diabetes es también hoy día una de las causas principales de muerte, debido en gran parte a un marcado aumento del riesgo de enfermedad coronaria cardiaca y derrame cerebral (enfermedad cardiovascular) (dibetesatlas.org). En Coahuila, según estadísticas del IMSS, de enero a noviembre de 2010 el número de defunciones causadas por diabetes fueron de un total de 1,077, de las cuales 604 fueron de mujeres y 473 de hombres (imss.gob.mx¹). Se practicaron 5,092 sesiones de hemodiálisis de enero a diciembre de 2010 (imss.gob.mx²). Con frecuencia, el primer tratamiento recomendado para la diabetes tipo 2 es la planificación de las comidas, la pérdida de peso y aumentar la actividad física del paciente; en ocasiones, estas medidas prueban ser insuficientes para reducir los niveles de azúcar en la sangre y mantenerlos dentro de los parámetros normales. Cuando esto sucede, se recurre a los medicamentos por vía oral (pastillas) (diabetes.org).

La medicina natural tiene muchas respuestas para tratarla de una forma alternativa y sin la necesidad de abandonar los tratamientos habituales, que ofrece la medicina convencional. Una de las maneras más comunes para controlar la diabetes es recurriendo a plantas y demás preparados caseros (innatia.com).

La secuencia empleada en el estudio de las plantas antidiabéticas es generalmente la misma que se sigue con cualquier planta medicinal. Una vez que se conocen los antecedentes acerca de las propiedades medicinales de una planta determinada por medio de investigaciones etnobotánicas, se procede a la realización de estudios de farmacología experimental en diferentes animales de laboratorio, los cuales buscan demostrar que la preparación popular, o el principio activo aislado de la planta en estudio, poseen efectos importantes. Posteriormente se llevan a cabo estudios toxicológicos con la finalidad de probar que el índice terapéutico es lo suficientemente seguro para iniciar estudios en el hombre (Rodríguez, R., 1976; Bondani, A., 1976; citado por Alarcón A. F., 1990). Estudios realizados en la Facultad de Química en la Universidad de Querétaro demostraron que el *Psittacanthus calyculatus* contiene metabolitos secundarios que promueve la relajación vascular y las actividades de pantalla antioxidante. Como era de esperar, su efecto antioxidante mostró una correlación significativa con el contenido de polifenoles (Moustapha Bah, M., comunicación personal¹).

En la Universidad Autónoma de Nuevo León se realizó un estudio en *Phoradendron tomentosum* a la cual se le han atribuido algunas de las siguientes propiedades medicinales: disminuye los niveles de glucosa sanguínea, ayuda a regular la presión sanguínea y, es un estimulante del sistema inmunológico. Se planteó determinar el efecto toxicológico crónico producido por el extracto acuoso de *Ph. tomentosum* en un grupo de ratas diabéticas y no diabéticas de experimentación sin mostrar efectos tóxicos (Calzado- Flores, 2004).

¹Dr. Mamadou Moustapha Bah. CEACA-Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro. . 2010.

El principal factor etiológico implicado en la pobre regulación de la diabetes y sus complicaciones, por ejemplo, la retinopatía, neuropatía, nefropatía y la microangiopatía, es la liberación de radicales. Para el tratamiento de la diabetes serían más útiles compuestos antidiabéticos con propiedades antioxidantes (Naga V., *et al*, 2012). El sistema antioxidante es el encargado de la remoción de las especies reactivas o radicales libres generados en el organismo como consecuencia de procesos fisiológicos o patológicos. Dado que la producción excesiva de estas moléculas puede inducir muerte celular, un adecuado balance entre los sistemas oxidante y antioxidante es vital para la función, regulación y adaptación de las células a diversas condiciones (Nordberg y Arnér, 2001).

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales (Alvídrez M., *et al*, 2002).

La presente investigación tiene como objetivo la identificación y cuantificación de compuestos activos reconocidos por su actividad hipoglucemiante e hipotensora presentes en los extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para determinar si estos extractos pueden ser aplicados dentro de la formulación de algún alimento funcional para diabéticos tipo 2.

1.3. Hipótesis

Los extractos acuosos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* tienen un contenido cuantificable y adecuado de compuestos con propiedades hipoglucemiantes e hipotensoras.

1.3.1. Hipótesis nula

Los extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* no tienen un contenido cuantificable y adecuado de compuestos con propiedades hipoglucemiantes e hipotensoras.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Extraer, identificar y cuantificar compuestos activos presentes en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para su empleo en la formulación de productos funcionales para diabéticos tipo 2.

1.4.2. Objetivos específicos

- ✓ Identificar taxonómicamente las plantas *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.
- ✓ Extraer mediante el uso de diferentes solventes los principios activos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.
- ✓ Evaluar cualitativa y cuantitativamente los extractos obtenidos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

CÁPITULO 2: Marco teórico

2.1. Diabetes mellitus

La diabetes se reconoce como conjunto de trastornos heterogéneos que tienen como elementos comunes la hiperglucemia y la intolerancia a la glucosa, debidas a una deficiencia de insulina, a la alteración de la efectividad de la acción de la insulina o a ambas cosas.

La diabetes mellitus está clasificada en cuatro tipos, en base a su etiología y la presentación clínica del trastorno (dibetesatlas.org):

- Diabetes tipo 1: pacientes insulino dependientes (Iván González, comunicación personal²)
- Diabetes tipo 2: no insulino dependientes (Iván González, comunicación personal²)
- Diabetes mellitus gestacional (DMG)
- Otros tipos específicos.

2.1.1. Diabetes mellitus tipo 2

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Diabetes Mellitus (DM) es el tercer problema de salud pública más importante en el mundo (medicosgeneralescolombianos.com).

La diabetes tipo 2 se caracteriza por la resistencia a la insulina y una deficiencia relativa de dicha hormona; cualquiera de estos dos rasgos podría estar presente en el momento en el que la diabetes se manifiesta clínicamente. El diagnóstico de diabetes tipo 2 suele producirse a partir de los 40 años, aunque podría darse antes, especialmente en poblaciones con una alta prevalencia de esta afección. Cada vez aparecen más informes de niños que desarrollan este tipo de diabetes (dibetesatlas.org).

²Dr. Iván González Gutiérrez. Médico cirujano y Cirujano general. Clínica Núm. 162, IMSS, México, D.F. Marzo. 2013.

El principal regulador de la concentración de glucosa en sangre es la insulina, hormona que sintetizan y segregan las células β de los islotes de Langerhans del páncreas. La hiperglucemia característica del paciente diabético obedece a una falta parcial o total de actividad insulínica o bien, a un exceso de los factores que se oponen a su acción, tales como glucagon, adrenalina, glucocorticoides, etc; los cuales también son conocidos como antagonistas de la insulina (Goodman, L. y Gilman, A., 1975; Ganong, F. W., 1980; citado por Alarcón A. F., 1990).

La diabetes tipo 2 puede permanecer sin ser detectada, es decir, ser asintomática, durante muchos años y el diagnóstico suele producirse a partir de complicaciones asociadas o incidentalmente mediante un análisis de sangre u orina que arroje resultados anormales. Esta enfermedad a menudo va, aunque no siempre, asociada a la obesidad, que en sí misma puede causar resistencia a la insulina y generar altos niveles de glucosa. Es hereditaria, aunque los principales genes de susceptibilidad aún no han sido identificados. Existen varios factores posibles en el desarrollo de diabetes tipo 2: obesidad, dieta y falta de actividad física; edad avanzada; resistencia a la insulina; antecedentes familiares de diabetes; desarrollo intrauterino por debajo del nivel óptimo; y/u origen étnico (dibetesatlas.org).

2.1.2. La diabetes en México

La diabetes mellitus es un factor de riesgo cardiovascular, se estima que entre 7 y 8 de cada 10 personas con diabetes padecen problemas macrovasculares, como cardiopatía isquémica que es la pérdida de equilibrio entre el aporte de oxígeno al miocardio y la demanda de este tejido, insuficiencia cardiaca cuando el corazón ya no puede bombear suficiente sangre al resto del cuerpo, la enfermedad vascular cerebral donde ocurre una interrupción del suministro de la sangre que llega al cerebro y la insuficiencia arterial periférica que es el bloqueo u obstrucción de las arterias (vivecondiabetes.com).

En México, la diabetes se ha convertido en una amenaza para las finanzas públicas, ya que de los 380 mil millones de pesos que se destinaron como presupuesto al IMSS, ISSSTE y SSa, más del 50% se gastó en el tratamiento de las complicaciones de dicha enfermedad crónica y degenerativa. Para 2010, de acuerdo a la Federación Mexicana de Diabetes (FMD), la enfermedad afectaba ya a 9 millones de personas, y se calculaba que el gasto promedio de un paciente para mantenerlo bajo control era alrededor de 2 mil pesos al mes.

De enero de 2010 a marzo del 2011 se registraron 8.7 millones de pruebas de detección de diabetes en el país, y tan sólo de enero a diciembre del 2010 se trataron a más de 120 mil personas, 11.9% más que en 2009.

La Secretaría de Salud informó que durante 2010 se registraron 72 mil 449 defunciones por diabetes mellitus, lo que representa 14.7% del total de las muertes del país (Valadez B, 2011).

En Coahuila, según estadísticas del IMSS, de enero a noviembre de 2010 el número de defunciones causadas por diabetes fueron un total de 1077, de las cuales 604 fueron de mujeres y 473 de hombres (imss.gob.mx¹); y de enero a diciembre de 2010 se practicaron 5092 sesiones de hemodiálisis (imss.gob.mx²).

En 2012, la Federación Internacional de Diabetes (FID) estimó que en México aumentó la población de diabéticos a 10.6 millones de personas de entre 20 a 79 años de edad, ocupando el sexto lugar con población diabética a nivel mundial. El número de defunciones causadas por diabetes fue de 73,347 en personas entre 20 a 79 años de edad.

Según la FID, la media de gastos ocasionados por la diabetes por persona afectada en México en el 2012 era de \$815.53 (USD), y en el mismo año había 3,452 personas de entre 20 a 79 años de edad con diabetes no diagnosticada (Federación Internacional de Diabetes, 2012).

Para sentirse mejor y reducir el riesgo de sufrir complicaciones derivadas de la diabetes en el largo plazo, es importante mantener el nivel de azúcar en la sangre (o glucemia) dentro de los valores normales tanto como sea posible. Con frecuencia, el primer tratamiento recomendado para la diabetes tipo 2 es la planificación de las comidas para controlar el nivel de azúcar en la sangre, la pérdida de peso y aumentar la actividad física del paciente. En ocasiones, esas medidas prueban ser insuficientes para reducir los niveles de azúcar en la sangre y mantenerlos dentro de los parámetros normales. Cuando eso sucede, se recurre a los medicamentos por vía oral (diabetes.org), conocidos también como hipoglucemiantes orales (med.unne.edu.ar).

2.1.3. Hipoglucemiantes orales

Los hipoglucemiantes orales son un conjunto heterogéneo de drogas que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia luego de su administración por vía oral, cumpliendo con este propósito a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos. Abarcan cuatro familias de drogas bien definidas: sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de las α -glucosidasas y tiazolidinedionas (med.unne.edu.ar).

Las sulfonilureas se pueden dividir en tres grupos: de duración corta, intermedia y prolongada (Ver cuadro 1). La principal indicación de la sulfonilureas la constituyen los pacientes diabéticos no insulino-dependiente (DMNID) que no respondan al tratamiento dietético. Las contraindicaciones son diabetes insulino-dependiente, acidosis y/o coma diabético, infecciones graves, cirugía mayor, adelgazamiento, diabetes secundaria a pancreatoclectomía, embarazo, lactancia, insuficiencia renal, insuficiencia hepática (med.unne.edu.ar). Ejemplo: la glibenclamida (Iván González, comunicación personal²).

²Dr. Iván González Gutiérrez. Médico Cirujano y Cirujano General. Clínica Núm. 162, IMSS, México, D.F. Marzo. 2013.

Dentro de la familia de las biguanidas, se encuentran los agentes fenformina, buformina (ambas retiradas del mercado farmacéutico por sus graves efectos adversos) y metformina. El mecanismo de acción fundamental de la biguanidas es la inhibición de la gluconeogénesis hepática y el incremento de la glucólisis anaeróbica, con la consiguiente elevación de alanina, glicerol y ácido láctico. Otro mecanismo implicado es la disminución de la absorción intestinal de glucosa. La metformina se administra por vía oral, se absorbe en el intestino delgado. Su $V_{1/2}$ es de 1.3 - 4.5 horas. La droga no se une a las proteínas plasmáticas y se excreta sin cambios por la orina. Su principal indicación la constituyen los pacientes con DMNID y obesidad, que no responden a la dieta ni al ejercicio físico. Se las puede utilizar sola o combinada con sulfonilureas o insulina (med.unne.edu.ar).

Dentro del grupo de los inhibidores de las α -glucosidasas se encuentran el miglitol y la acarbosa. El mecanismo de acción fundamental es la inhibición reversible y competitiva de las α - glucosidasas en el borde en cepillo de la mucosa intestinal, produciendo el retraso en la absorción de los hidratos de carbono complejos, con la consiguiente reducción del pico máximo de glucemia postprandial. Su utilización es más eficaz cuando se realiza conjuntamente a una dieta rica en fibras y reducido en glucosa y sacarosa. Su principal indicación la constituyen pacientes con DMNID con valores de glucemia basales entre 140-180 mg/dl y glucemias postprandiales elevadas (entre 180-250 mg/dl), o aquellos casos en que exista contraindicación para el uso de sulfonilureas o metformina (med.unne.edu.ar).

El último grupo está constituido por las tiazolidinedionas, el cual incluye a la troglitazona, la pioglitazona y la ciglitazona, la primera fue retirada del mercado por sus efectos hepatotóxicos. La vía de administración es oral, circulan unidas a proteínas principalmente (99%) albúmina plasmática y se metabolizan por conjugación en sulfoconjugados, ácido glucurónico y quinonas. Se excreta fundamentalmente por vía biliar, por lo cual no se altera con la insuficiencia renal (med.unne.edu.ar).

Las sustancias que las plantas elaboran y acumulan en sus tejidos son importantes desde el punto de vista farmacéutico, porque muchas poseen propiedades

farmacológicas y pueden utilizarse en la preparación de medicamentos (Valencia Ortiz, C., 1995), ejemplo de ello es la metformina, que es un derivado de un producto natural activo: la galegina, un aislado de la planta *Galega officinalis* L (Witters, 2001; citado por Andrade-Cetto, A. & Heinrich M., 2005). La medicina natural tiene muchas respuestas para tratar la diabetes de una forma alternativa y sin la necesidad de abandonar los tratamientos habituales que ofrece la medicina convencional. Una de las maneras más comunes para controlar la diabetes es recurriendo a plantas y demás preparados caseros (innatia.com).

En la figura 1 se observan los diferentes tratamientos hipoglucemiantes orales en su clasificación por grupos.

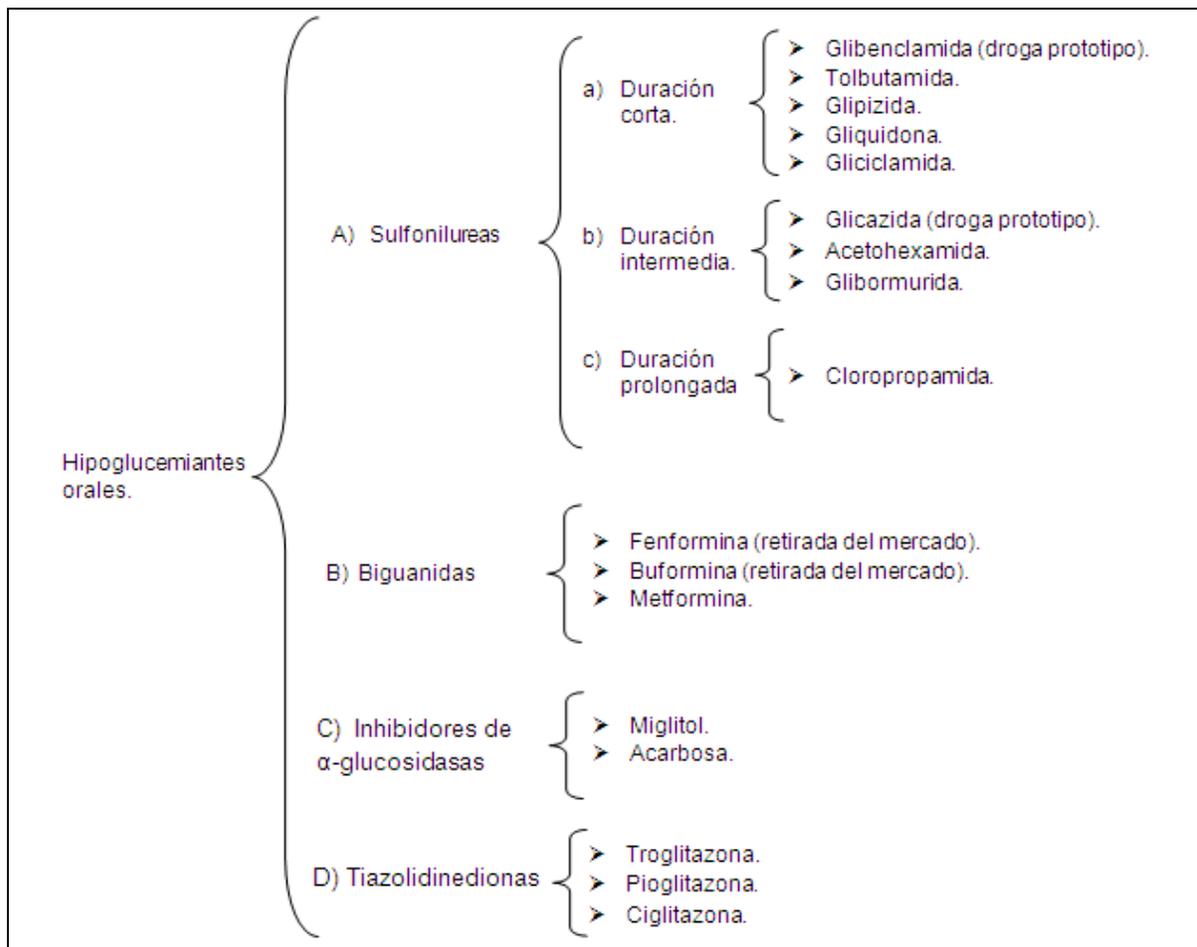


Figura 1. Clasificación de hipoglucemiantes orales. Fuente: med.unne.edu.ar.

2.2. Principios fitoquímicos

La fitoquímica es el estudio de los constituyentes químicos de las plantas; dicho estudio abarca su biosíntesis, metabolismo, distribución natural, función biológica, aislamiento, purificación y estructura química. Las plantas que se usan terapéuticamente, también se utilizan para la elaboración de bebidas, condimentos para alimentos, colorantes u odorizantes (Valencia Ortiz, C., 1995).

Los metabolitos secundarios que producen las plantas se conocen como constituyentes químicos, y los metabolitos responsables de efectos terapéuticos se conocen como constituyentes activos (Valencia Ortiz, C., 1995). Según la OMS, los principios activos son los ingredientes de los medicamentos herbarios que tienen actividad terapéutica. En el caso de los medicamentos herbarios cuyos principios activos hayan sido identificados, se debe normalizar su preparación, si se dispone de métodos analíticos adecuados, para que contengan una cantidad determinada de ellos. Si no se logra identificar los principios activos, se puede considerar que todo el medicamento herbario es un solo principio activo (who.int).

Los constituyentes inertes también presentes en plantas como la celulosa, lignina, suberina, almidón, albúmina y algunas materias colorantes que no tienen alguna actividad farmacológica definida pueden modificar incluso eliminar la absorción o la potencialidad de los constituyentes activos. Para anular estos efectos en drogas crudas o preparaciones galénicas, los principios activos para uso terapéutico se extraen, purifican y cristalizan (Valencia Ortiz, C., 1995).

Los constituyentes farmacológicamente activos son aquellos a los que se les atribuye la actividad terapéutica de la droga; pueden ser una sustancia aislada o una mezcla de principios. En este último caso, la separación de ellos no se considera ni práctica ni ventajosa. Los constituyentes aislados pueden ser alcaloides, glicósidos, enzimas, hormonas, vitaminas, etc., y las mezclas incluyen aceites fijos, grasas, ceras, aceites volátiles, resinas, oleorresinas, gomorresinas, bálsamos, etc. En el caso más simple, las plantas contienen un solo componente activo, lo que casi no se presenta, lo más frecuente es que contenga una serie de compuestos de estructuras parecidas y con propiedades farmacológicas similares (Valencia Ortiz, C., 1995).

Los constituyentes activos también pueden estar presentes como sinérgicos o antagónicos, o sustancias que presentan otros efectos farmacológicos. Hay compuestos puros que se han aislado de plantas que tienen menor valor terapéutico que cuando formaban parte del extracto total. Los compuestos aislados que son inactivos también son importantes, ya que pueden interferir, o bien, ser precursores de los principios activos. Los compuestos inactivos pueden afectar la actividad de la droga por razones físicas; así los ácidos grasos presentes en muchos extractos alcohólicos actúan como codisolventes de los principios activos. Las drogas crudas vegetales son productos naturales que únicamente han pasado por procesos de recolección y secado. El término “productos naturales” se refiere a aquellos productos que se encuentran en la naturaleza, y comprende tanto las plantas superiores como inferiores, sus extractos y otros constituyentes que no han tenido cambios en su estructura molecular (Valencia Ortiz, C., 1995).

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas. Los tres grupos más importantes son los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles. Los más estudiados son los flavonoides. Los compuestos fenólicos son biológicamente activos, son antioxidantes y pueden poseer propiedades preventivas de enfermedades (Valencia Ortiz, C., 1995).

2.3. Plantas y compuestos hipoglucemiantes

Alarcón A. F. (1990) resalta la realización de estudios etnobotánicos convenientes para entender las interpretaciones populares acerca de la diabetes mellitus y el preciso estado clínico por el cual una determinada planta se prescribe, ya que algunas de ellas se utilizan para combatir los síntomas principales de la diabetes mellitus, y otras se usan más bien para aliviar las complicaciones crónicas del padecimiento, aunque también son consideradas por la población como plantas antidiabéticas.

La literatura muestra que la mayoría de las plantas estudiadas tienen efecto hipoglucémico notable y, debido a que la estructura química de los principios aislados que se conocen varían ampliamente, han sido propuestos diferentes mecanismos de acción. Algunas plantas actúan incrementando la liberación de insulina, requiriendo por lo tanto de células β funcionales para ejercer su acción; otras plantas actúan modificando el metabolismo de la glucosa y algunas parece que corrigen ciertas complicaciones de la diabetes mellitus, principalmente las de origen vascular (Baley, J. & Day, C., 1989; Ivorra, M. & Payá, M., 1971; Atta-ur-Rahman & Zaman, K., 1989; citado por Alarcón A. F., 1990).

Aynur Büyükbalci & Sedef Nehir (2008) mencionan estudios que han demostrado que las actividades anti-hiperglucémicas de 11 plantas usadas en Europa fueron explicadas en parte por la capacidad de los compuestos solubles en agua para inhibir o retrasar la absorción de glucosa en el intestino, para aumentar el transporte de glucosa y el metabolismo muscular y/o para estimular la secreción de la insulina (McCune L., M. & Johns T., 2002; Gurib-Fakim A., *et al*, 2005; Kelble, A., 2005; Gallagher A., M. *et al*, 2003; Citado por Aynur Büyükbalci & Sedef Nehir, 2008) y concluyen que los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante pueden ser útiles para la planificación de las comidas de diabéticos tipo 2, ya que podrían contribuir a mantener el nivel antioxidante del plasma porque los antioxidantes presentes en plantas y hierbas previenen el desarrollo de enfermedades vasculares observadas en la diabetes tipo 2 (Aynur Büyükbalci & Sedef Nehir, 2008).

Una revisión en la literatura realizada por Barbosa F., *et al*, (2005) muestra que se han encontrado una gran variedad de compuestos, obtenidos de varias plantas del Sur, América Central y del Norte, que poseen acción hipoglucemiante. Por ejemplo, los triterpenos: ácido oleanólico (1) y ácido bassic (2) de *Bouvardia terniflora* (Pérez et al., 1998; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005) y *Bumelia sartorum* (Naiket al., 1991; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005) bajaron respectivamente azúcar en la sangre en los animales de prueba. Del mismo modo los diterpenos trans-dihidrocrotónina (3) de *Croton cajucara* (Farías et al, 1997; citado por Barbosa Filho, J. *et al*, 2005) y esteviol (4) de *Stevia rebaudiana* (Ishii; Bracht, 1985; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005) exhiben actividad similar. Ciertos flavonoides, por ejemplo la 5,7,3-trihidroxi-3,6-4'-trimetoxiflavona (5) de *Brickellia veronicaefolia* (Pérez et al., 2000; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005) y el glicósido isoorientin (6) de *Cecropia obtusifolia* (Andrade-Cetto et al., 2001; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005) también mostraron efectos hipoglucémicos. Una serie de alcaloides aislados de *Vinca rosea* (*Catharanthus rosea*) con actividad antitumoral (Svoboda *et al.*, 1964; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005) se sometieron a ensayo para los efectos hipoglucemiantes. Los resultados indicaron que los alcaloides catarantina, leurosina (7), locnerina, tetrahidroalstonina, vindolina y vindolinina (8) produjeron grados variables de reducción de azúcar en la sangre. Para *Otholobium pubescens* esta propiedad fue atribuida al compuesto fenólico: bakuchiol (9). El aminoácido hipoglicina A (10) aislado a partir de *Blighia sapida* fue particularmente eficaz contra la diabetes (Kean, 1975; Mills et al, 1987; citado por Barbosa Filho, *et al*, 2005). La gran variedad de clases químicas indican que una diversidad de mecanismos de acción están involucrados en la reducción del nivel de glucosa en la sangre (Barbosa Filho, *et al*, 2005).

En la figura 2 se muestran ejemplos de estructuras químicas de compuestos con actividad hipoglucemiante recopilados por Barbosa Filho, *et al*, (2005).

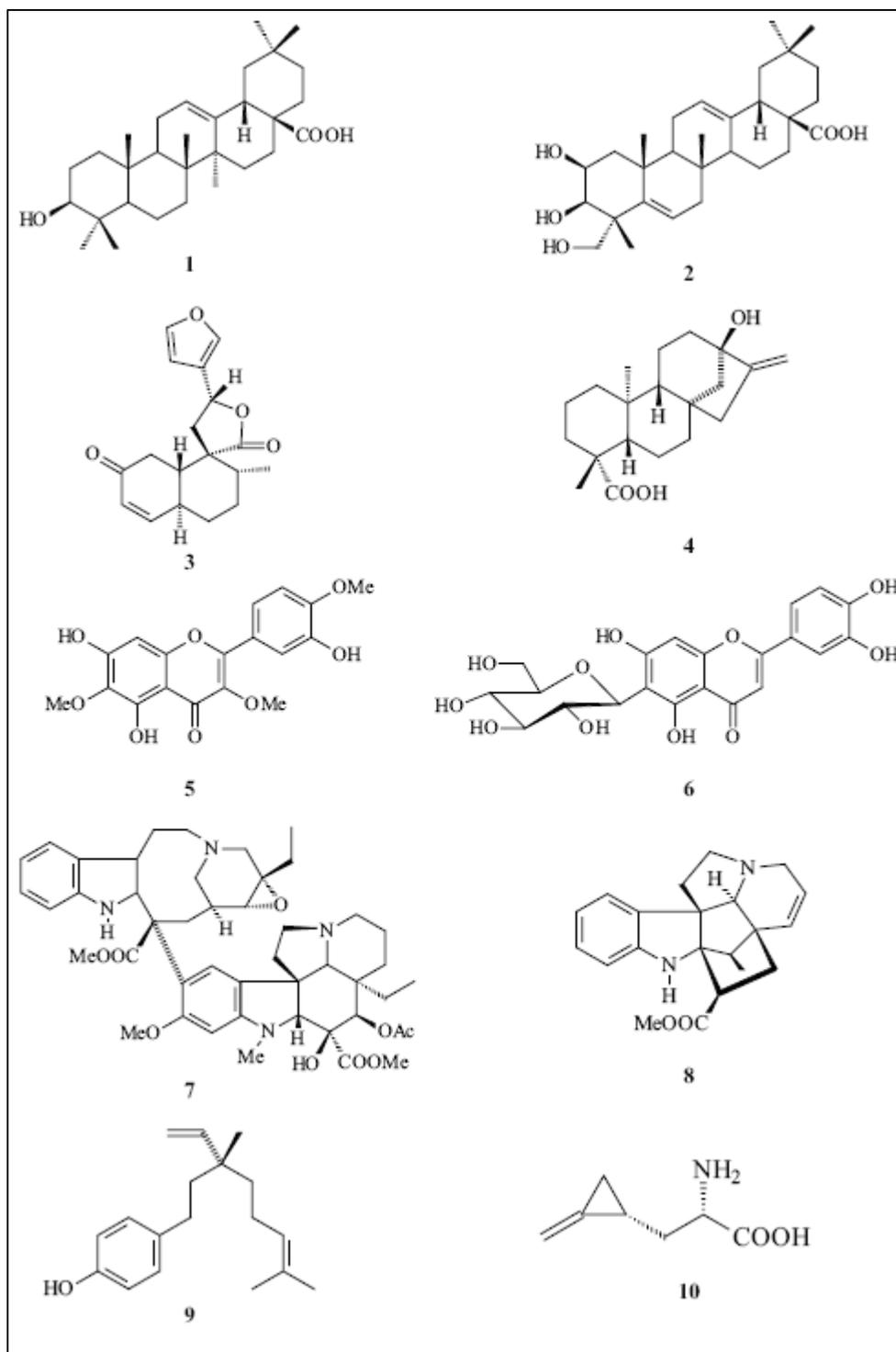


Fig. 2. Ejemplos representativos de compuestos con actividad hipoglucémica: ácido oleanólico (1), ácido bassic (2), diterpenos trans-dihidrocrotonina (3), esteviol (4), 5,7,3-trihidroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona (5), glicósido isoorientin (6), leurosina (7), vindolinina (8), bakuchiol (9) y elaminoácido hipoglicina A (10). Fuente: Barbosa-Filho, J. *et al*, 2005.

Se ha demostrado que la actividad del páncreas humano de la α -amilasa (HPA) en el intestino delgado se correlaciona con un aumento en los niveles de glucosa postprandial, el control de la cual por lo tanto, es un aspecto importante en el tratamiento de la diabetes. Inhibidores pancreáticos de la α -amilasa ofrecen una estrategia eficaz para reducir los niveles de mensaje de hiperglucemia prandial a través del control de la ruptura del almidón. Once plantas medicinales ayurvédicas indias conocidas por sus propiedades hipoglucemiantes se evaluaron para determinar la inhibición de la α -amilasa, con el fin de analizar y evaluar su potencial inhibitorio sobre la α -amilasa pancreática. El análisis de 91 extractos mostró que 10 plantas presentaban fuerte potencial inhibidor de la amilasa pancreática humana (HPA). El análisis fitoquímico reveló la presencia de alcaloides, proteínas, taninos, glucósidos cardíacos, flavonoides, saponinas y esteroides como compuestos inhibidores probables (Ponnusamy S., *et al*, 2011; Sudha P., *et al*, 2011; citado por Naga Vamsi, *et al*, 2012).

Barbosa-Filho *et al* (2005) menciona a *Psittacanthus calyculatus* dentro de una lista de plantas con actividad hipoglucemiante con estudios realizados por Pérez *et al* (1984) utilizando el extracto acuoso de sus flores y aplicándolos en ratones. (Barbosa-Filho, 2005). Andrade-Cetto (2005) enlista a *Phoradendron tomentosum* utilizada por medio de infusión como remedio para la diabetes, y como información fitoquímica se menciona el contenido de Phoratoxinas. Dentro de este registro también aparece *Psittacanthus calyculatus*, reportando el uso de hojas y flores en infusiones (Andrade-Cetto, 2005).

Estudios realizados en la Facultad de Química en la Universidad de Querétaro demostraron que *Psittacanthus calyculatus* contiene metabolitos secundarios que promueven la relajación vascular y las actividades de pantalla antioxidante, su efecto antioxidante mostró una correlación significativa con el contenido de polifenoles (Bah, M., 2010, comunicación personal¹).

¹Dr. Mamadou Moustapha Bah. CEACA-Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro., 2010.

Beltrán M. (2009) evaluó extracto acuoso obtenido de *P. calyculatus* concluyendo que contiene principios activos capaces de interactuar con receptores o canales iónicos membranales, induciendo la liberación de factores vasorelajantes derivados del endotelio. La inhibición de la actividad de la proteína GCs por ODQ indicó que el efecto producido por los compuestos presentes en *P. calyculatus* esta mediada por una activación de la vía del NO/GMPc. Estos resultados apoyan la utilización de la planta en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como la hipertensión, la aterosclerosis o la angina de pecho (Beltrán Martínez, *et al*, 2005).

Un estudio fitoquímico realizado por Bah M. *et al* (2011) en una fracción metanol-soluble de un extracto acuoso de una muestra de *Psittacanthus calyculatus* colectado de la planta hospedera *Prosopis laevigata* utilizando diferentes técnicas, incluyendo co-cromatografía acoplada con detección UV, purificaciones cromatográficas e infrarrojo, resonancia magnética nuclear (RMN) y estudios de espectrometría de masas (SM) resultó en la identificación de ácido gálico, 2 favonol-3-biosidos, y el aminoácido nanoproteína *N-metil-trans-4-dihidroxi-L-prolina*.

En la figura 3 se muestra la estructura del ácido gálico (**1**), la estructura química de la catequina (**2**), la estructura del compuesto aislado *trans N-metil-trans-4-dihidroxi-L-prolina* (**3**), aparecen los dos principales glucósidos flavonones isorhamentin 3-O- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosido (**4**) y *quercetina-3-O- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosido* (**5**), los cuales también se purificaron a partir de otra porción de la fracción de metanol, utilizando cromatografía en columna (CC) en sílica gel seguida por HPLC de fase inversa. Las estructuras de estos tres últimos compuestos se determinaron mediante estudios espectroscópicos (Bah M. *et al*, 2011).

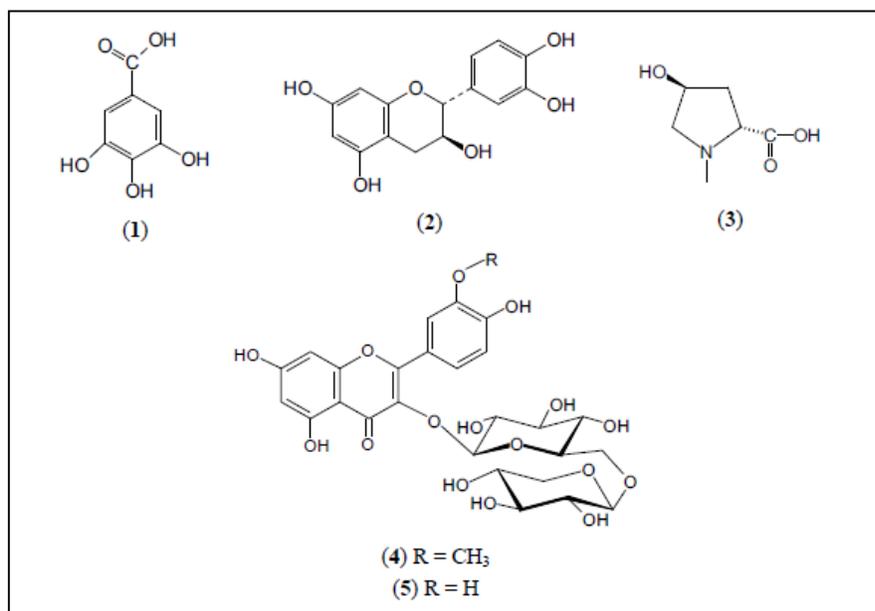


Fig. 3. Compuestos identificados en la fracción MeOH-soluble del extracto acuoso de una muestra de *Psittacanthus calyculatus* (Bah M. *et al*, 2011).

En la Universidad Autónoma de Nuevo León se realizó un estudio en *Phoradendron tomentosum* a la cual se le han atribuido algunas de las siguientes propiedades medicinales: disminuye los niveles de glucosa sanguínea, ayuda a regular la presión sanguínea y estimulante del sistema inmunológico. Se planteó determinar el efecto toxicológico crónico producido por el extracto acuoso de *Ph. tomentosum* en un grupo de ratas diabéticas y no diabéticas de experimentación sin mostrar efectos tóxicos. Los estudios fitoquímicos realizados utilizando tanto reacciones coloridas como cromatografías, revelaron que *Phoradendron tomentosum* posee los siguientes grupos de metabolitos secundarios: esteroides, saponinas y sesquiterpenlactonas (Calzado-Flores, 2004).

2.4. Identificación de los muérdagos *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus*

Domínguez X. (1973) menciona que la identificación de un vegetal es indispensable en todo trabajo químico. Para esto se le examina ordenadamente según sus características morfológicas más sobresalientes y a medida que se va descendiendo en la escala de clasificación, se observan detalles más minuciosos, pasando a caracteres microscópicos y fisiológicos.

Tradicionalmente los muérdagos fueron incluidos en la familia botánica *Loranthaceae*, la cual está dividida en dos subfamilias: *Viscoideae* y *Loranthaceae*; sin embargo, en estudios taxonómicos recientes y utilizando técnicas más finas (estudios de polen y de los cromosomas) la han separado en tres familias: *Loranthaceae*; *Viscaceae* y *Ermolepidaceae* (Kuijt, 1968; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006). Los muérdagos verdaderos también llamados frondosos, son arbustos herbáceos o leñosos que crecen sobre las ramas de árboles y arbustos de angiospermas y gimnospermas. Sus características distintivas son hojas lanceoladas, verdes y frutos mucilaginosos no explosivos (Acosta y Cházaro, 1992; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006). Los géneros de muérdagos verdaderos más comunes en México son *Struthanthus*, *Phoradendron* y *Psittacanthus* (Vázquez Collazo, *et al*, 2006). Estos muérdagos son en realidad semiparásitos (Calderón, 1979; Young, 1991; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006) o hemiparásitos (Reiche, 1975; Sánchez, 1984; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006); son de naturaleza entre epífita y parásita (Hoher, 1984; Villé, 1984; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006) debido a que contienen clorofila, fotosintetizan y producen carbohidratos como fuente de energía para su crecimiento. Obtienen el agua y sustento físico de sus hospederos y algunos minerales (Leonard & Hull, 1965; Hawksworth, 1978, 1980; Schulz, 1984; Agrios, 1985; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006) y en algunas condiciones se da la traslocación de los productos de la fotosíntesis del muérdago a su hospedero (Leonard y Hull, 1965; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006).

El sistema endofítico de los muérdagos verdaderos no invade el sistema vascular del hospedero y no se regeneran por brotes de nuevas yemas procedentes del endofito; por lo tanto, eliminando la parte aérea la infestación continúa (Cházaro, 1992; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006).

2.4.1. Generalidades de *Phoradendron tomentosum*

Las especies del género *Phoradendron* son arbustos erectos o colgantes, de varios metros de longitud y parásitos de dicotiledóneas, aunque algunos atacan especies de pino; tienen ramas redondeadas, subcilíndricas, angulares o comprimidas, con o sin catafilos en la base de las ramas o en los entrenudos. Son glabras o pubescentes, de color verde, amarillo o verde amarillento; las hojas son opuestas y bien desarrolladas, reducidas algunas veces a escamas, de color verde o amarillentas, con venación basinervada o pinnatinervada, lineares, lanceoladas o linear oblongas; de borde entero, ápice obtuso o agudo, base atenuada o cuneada y generalmente son coriáceas. Son plantas dioicas, sésiles o hundidas en el raquis de una espiga; las inflorescencias pueden ser solitarias y axilares o en espigas, la cual nace en los nudos de las ramas y está dividida en varios nudos o articulaciones. Las flores son pequeñas, unisexuales y el perianto está dividido en tres partes con 2 a 6 hileras de flores en cada articulación, inmersas en el eje de las espigas; el ovario es unilocular y uniovulado. El fruto es una baya globosa u ovoide, con o sin pedicelo, tuberculado elíptico, glabro o pubescente, de colores que varían desde el blanco, verde, verde amarillento, anaranjado o rojo; la semilla está envuelta en una pulpa pegajosa mucílago.

El género *Phoradendron* se encuentra en diferentes tipos de vegetación arbórea: *Quercus ssp*, *Prosopis ssp*, *Juniperus ssp*, *Cupressus ssp* (Vázquez Collazo, I., *et al* 2006).

En seguida se presenta la figura 4, en la cual se muestran imágenes del muérdago *Phoradendron tomentosum* y su hospedero *Prosopis glandulosa*.

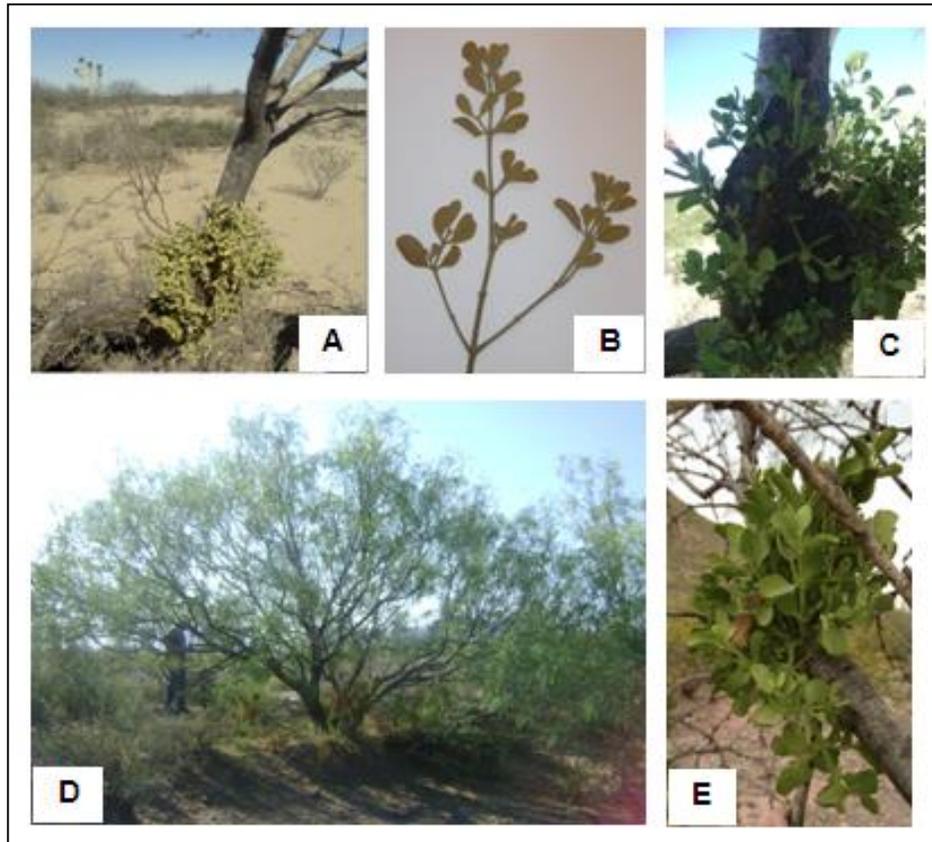


Fig. 4. *Phoradendron tomentosum* y hospedero; **A:** Sitio de recolección de *Phoradendron tomentosum* en General Cepeda, Coahuila; **B:** Prensa de *Ph. tomentosum*; **C** y **E:** *Phoradendron tomentosum* en hospederos; **D:** Mezquite hospedero de *Ph. tomentosum* identificado como *Prosopis glandulosa*.

2.4.1.2. Identificación taxonómica de *Phoradendron tomentosum*

En la tabla 1 aparece la clasificación taxonómica de *Phoradendron tomentosum* según The Integrated Taxonomic System (datos.sndb.mincyt.gob.ar).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Phoradendron tomentosum* de acuerdo al Catálogo de vida 2010: The Integrated Taxonomic System (datos.sndb.mincyt.gob.ar).

Reino: <i>Plantae</i>
Filo: <i>Magnoliophyta</i>
Clase: <i>Magnoliopsida</i>
Orden: <i>Santalales</i> .
Familia: <i>Viscaceae</i>
Género: <i>Phoradendron</i>
Especie: <i>Phoradendron tomentosum</i>

2.4.2. Generalidades de *Psittacanthus calyculatus*

El género *Psittacanthus* contiene arbustos parásitos de árboles y arbustos, erectos; crecen sobre ramas de dicotiledóneas, de 1 a 2m de longitud, tienen tallos cilíndricos o cuadrangulares, quebradizos. Posee hojas grandes, verdes y bien desarrolladas, opuestas, alargadas, pinnatinervias, con el ápice obtuso o agudo, persistentes, carnosas, de formas cordada, obovada o lanceolada de 8cm de largo y 3.5cm de ancho. Tiene flores hermafroditas tubulares, de 3 a 8cm de longitud, amarillas o anaranjadas y perianto glabro; estambres en igual número a los lóbulos del perianto glabro; estambres en igual número a los lóbulos del perianto, ovario ínfero y unilocular; inflorescencia corimbosa; al madurar se abre en 6 partes, tiene 6 estambres unidos por el filamento al perianto. El fruto es una baya elíptica, de color verde (inmaduro) y negra o café oscura (maduro), de 1cm de largo por 5mm de ancho; la semilla sin endospermo está envuelta en una sustancia pegajosa que al madurar y encontrarse sobre la rama del hospedero se abre, tomando un aspecto estrellado (Martínez, 1978, citado en Oliva, 1983; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006).

El ciclo biológico de los muérdagos verdaderos es largo, variando de acuerdo a las condiciones del clima, la altitud y de las especies; *Psittacanthus calyculatus* presenta un ciclo de vida de 5 años, de los cuales tres son de crecimiento vegetativo, 7 meses de floración y 16 meses en fructificación (Vázquez, 1989; citado por Vázquez Collazo, I., *et al* 2006). El mecanismo de dispersión de las semillas de muérdago verdadero es zoócora; es decir, se dispersa con ayuda de animales, siendo los frutos bayas carnosas de vistoso colorido que atraen la atención de aves frugívoras. Las semillas que ave ingiere pasan a través del tubo digestivo sin perder su viabilidad ni las propiedades de adherencia de la viscina o mucílago y al ser excretadas se adhieren a la rama o ramilla, hoja o tronco donde el ave se posa y defeca; si el árbol es compatible con la especie de muérdago entonces podría germinar y sobrevivir, si no es así, entonces no prospera.

La dispersión a larga distancia es propiciada por la migración de las aves (Cházaro et al, 1992; citado por Vázquez Collazo, I., et al 2006). Un estudio realizado por Salas (1988) sobre aves dispersoras de muérdago observó una asociación directa de 18 especies de aves con *P. calyculatus*, de las cuales 13 fueron de hábito insectívoro, 3 omnívoros y 2 granívoros; del total de aves capturadas (162), sólo 8 tenían semillas de muérdago adheridas al cuerpo (4.9 %) perteneciendo a las especies *Vermivora superciliosa* (dos ejemplares), *Dendroica auduboni* (un ejemplar) e *Icterus bullockii* (dos ejemplares). De esta investigación se concluye que las aves comedoras de semillas no son el principal vector de la dispersión del muérdago (Salas 1988; citado por Vázquez Collazo, I., et al 2006).

Los daños que ocasionan las especies del género *Psittacanthus* a sus hospedantes son pérdida de volumen maderable, disminución de la capacidad reproductiva de las especies por la baja producción de conos y semillas, la reducción del porcentaje de germinación de las semillas y muerte de los árboles (Vázquez, 1993; citado por Vázquez Collazo, I., et al 2006). En la actualidad, se tienen registradas más de 150 especies hospederas para *Psittacanthus*, los cuales incluyen árboles, arbustos y cactáceas (Carbajal et al, 1989; citado por Vázquez Collazo, I., et al 2006), tanto de gimnospermas como de angiospermas. Entre las primeras especies hospederas registradas se encuentran *Quercus obtusata* (encino), *Acacia*, *Juglans* (nogal), *Ficus*, *Populus*, *Salix* (sauce), *Prunus* (durazno, capulín), *Prosopis* (mezquite), *Annona* (chirimoya), *Bursera*, *Citrus* (limón, naranja), *Eucalyptus*, *Persea* (aguacate), *Casuarina*, *Pseudosmodingium*, *Arbutus*, *Ulmus*, *Liquidambar*, *Psidium*, *Spondias* (ciruelo), *Pithecellobium* (pinzán), *Amphipterigium*, *Pyrus* (pera), *Mimosa* (huizache), *Cydonia* (membrillo) y *Crataegus pubescens mexicana*. No se conocen especies de monocotiledoneas parasitadas por estos muérdagos; de las gimnospermas ataca a los géneros *Pinus*, *Cupressus* y *Abies*; las especies de *Pinus* frecuentemente parasitadas son *Pinus leiophylla*, *P. douglasiana*, *P. michoacana*, *P. montezumae*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. herrerae*, *P. lawsonii*, *P. oocarpa*, *P. pringlei*, *P. durangensis*, *P. lumholtzii*, *P. engelmanni* y *P. rudis*. Con relación al género *Abies*, sólo parasita a *Abies religiosa* (Vázquez, 1993; citado por Vázquez Collazo, I., et al 2006). *Psittacanthus calyculatus* es la especie de mayor rango de distribución en el Estado de Michoacán

y en el Estado de Querétaro, en algunos casos ocupando más del 50% de la copa de sus hospederos, en particular de *Prosopis* (mezquite). En Querétaro, su distribución es amplia y comprende los municipios de Amealco, Huimilpan, El Marqués, Querétaro y Villa Corregidora, aunque tiene preferencia por zonas de mayor perturbación ya que fue el único que se encontró en zonas urbanas y zonas de cultivo y potreros. A pesar de que crece principalmente sobre mezquite, también fue notoria su presencia en los otros cinco hospederos (Solís Gracia & Gómez Sánchez, 2005).

A continuación se muestra la figura 3 en la que se observan las flores y hojas de *Psittacanthus calyculatus* y el hospedero del cual se recolectó la muestra: *Prosopis leavigata*.

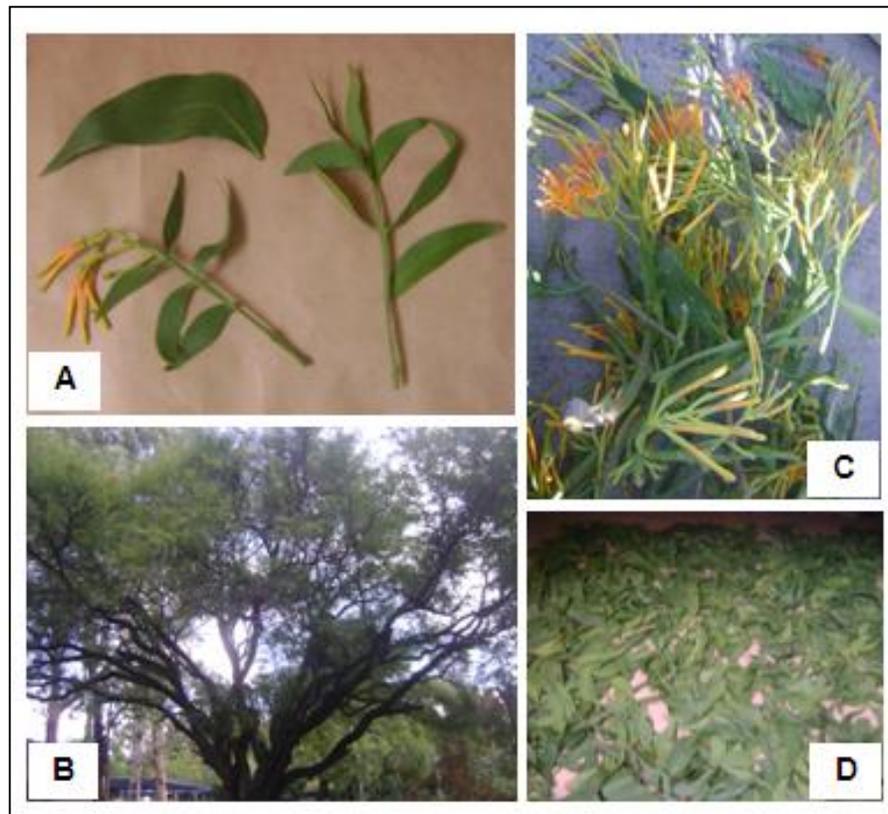


Fig. 5. *Psittacanthus calyculatus* y hospedero; **A**: hojas y flores de *P. calyculatus*; **B**: mezquite *Prosopis leavigata* hospedero de *P. calyculatus*; **C**: Flores de *P. calyculatus*; **D**: hojas de *P. calyculatus* secándose.

2.4.2.1. Identificación taxonómica de *Psittacanthus calyculatus*

En la tabla 2 se muestra la identificación taxonómica de *Psittacanthus calyculatus* según The Global Biodiversity Information Facility (bioasam.org).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Psittacanthus calyculatus* de acuerdo a The Global Biodiversity Information Facility (bioasam.org)

Reino: <i>Plantae</i>
Filo: <i>Magnoliophyta</i>
Clase: <i>Magnoliopsida</i>
Orden: <i>Santalales.</i>
Familia: <i>Loranthaceae</i>
Género: <i>Psittacanthus</i>
Especie: <i>Psittacanthus calyculatus</i>

2.4.3. Distribución geográfica de plantas parásitas y epífitas en México

Para complementar la identificación en la figura 4 se presenta un distribución a nivel nacional en donde CONAFOR (2011) marca diferentes localidades del país a las cuales se les han destinado apoyo para erradicar diferentes plantas parásitas y epífitas; entre ellas *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

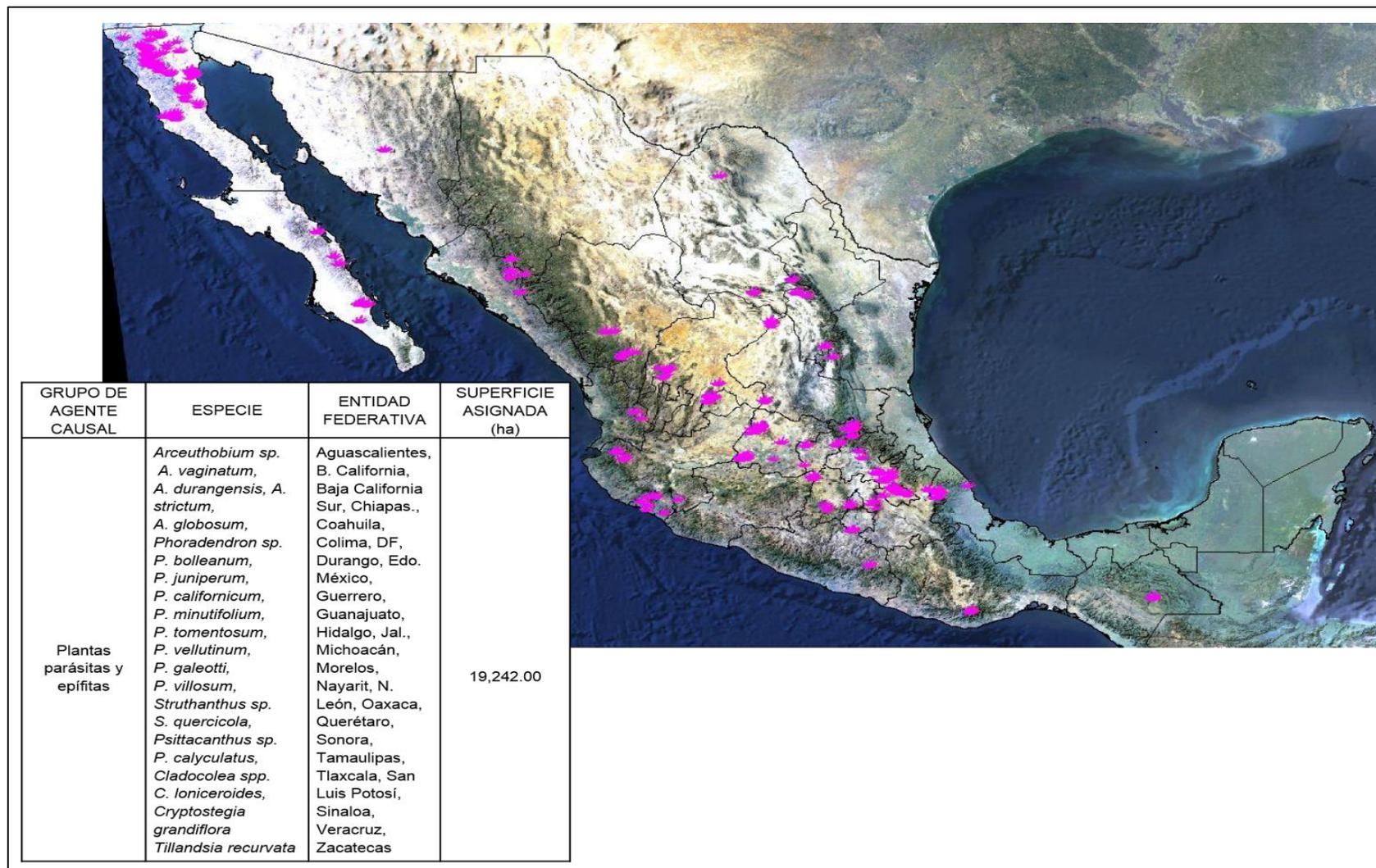


Fig. 6. Distribución de plagas y enfermedades 2011; Plantas parásitas y hepífitas. Fuente: CONAFOR, 2011 (conafor.gob.mx)

2.5. Fenoles y flavonoides

Estos compuestos se encuentran de manera natural en las plantas (Valencia Ortíz C., 1995). Aproximadamente 8,000 compuestos de origen natural pertenecen a la categoría de "fenólicos", los cuales comparten como característica una estructural común: un anillo aromático soportando al menos un hidroxilo sustituto, ejemplo: un fenol (Croteau, R., *et al*, 2000; citado por Stalikas, C., 2007). Una clasificación sencilla intenta dividir la amplia categoría de compuestos fenólicos en fenoles simples y polifenoles, basada exclusivamente en el número de la subunidad del fenol presente (Clifford M., 1999; citado por Stalikas, C., 2007). Por lo tanto, el término "compuestos fenólicos vegetales" abarca desde fenoles simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, hasta taninos hidrolizables y condensados, lignanos y ligninas (Stalikas, C., 2007).

Dentro de las funciones conocidas que realizan los flavonoides en las plantas están las de protección de los rayos UV, protección de oxidantes o radicales libres, modulación de la actividad enzimática, atracción de insectos o repulsión de estos, protección viral, fúngica y bacteriológica, germinación del polen, entre otras más (Andersen O. & Markham K., 2006).

Los fenoles tienen una serie de beneficios que promueven la salud; son de interés actual debido a sus importantes propiedades biológicas y farmacológicas, especialmente antiinflamatoria (Koshihara, Y., *et al*, 1984; citado por Stalikas, C., 2007), actividades antioxidantes (Zhou, J., *et al*, 1999; citado por Stalikas, C., 2007), antimutagénicas y anticancerígenas (Tanaka, T., *et al*, 1993; Serrano, A., *et al*, 1998; citado por Stalikas, C., 2007), así como actividad hipoglucemiante (Naga V., *et al*, 2012).

Los polifenoles, a los cuales pertenecen los flavonoides, poseen al menos dos subunidades de fenol; compuestos que poseen tres o más subunidades son referidos como taninos (hidrosolubles y no hidrosolubles). Los flavonoides son un grupo de sustancias que se encuentran en las plantas cuyas estructuras derivan del núcleo aromático flavano o 2-fenilbenzopirano. También son compuestos de la serie C₆-C₃-C₆, por lo que son anillos de benceno sustituidos por una cadena alifática de tres carbonos (Domínguez, X. A., 1973). Se conocen aproximadamente 750 de estos compuestos, de los que el más simple es la flavona (Valencia Ortiz, 1995).

La mayoría de los flavonoides son solubles en agua, se aíslan de los tejidos frescos por extracción con alcohol caliente, o de un material seco con alcohol acuoso caliente; los pocos flavonoides que son liposolubles, requieren de un tratamiento especial. Una ventaja de los flavonoides es que pueden detectarse rápidamente en las cromatografías sin usar reactivos cromógenos, además muchos cambian de color cuando se tratan con amoníaco, color que es reversible, tal vez sea por esto sea la técnica más utilizada para separarlos y purificarlos. La espectroscopia ultravioleta es útil sobre todo si se emplean sales inorgánicas; las flavononas, según sea el número y la posición de los hidroxilos y otros sustituyentes, tienen cambios característicos con cloruro de aluminio, acetato de sodio, álcali y ácido bórico (Valencia Ortiz, 1995).

Existen diferentes técnicas que han sido utilizadas para la separación y determinación de fenoles y flavonoides en plantas: cromatografía de capa delgada (TLC); cromatografía de gases (GC); cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); métodos electrocromatográficos capilares y electroforéticos capilares; resonancia magnética nuclear (RMN); técnicas de detección de reacciones químicas; y detección espectrofotométrica. Además, se pueden combinar técnicas para una rápida determinación de los compuestos presentes (Stalikas, C., 2007).

El ensayo de Folin-Ciocalteu, un método espectrofotométrico, se utiliza para la determinación del contenido total de fenoles presentes en alimentos vegetales. El Folin-Ciocalteu es un reactivo sensitivo a compuestos reductores incluyendo polifenoles, produciendo por consiguiente un color azul bajo la reacción. Este color azul es medido espectrofotométricamente a 760nm, para determinar el contenido fenólico total (Dhananjay Singh & Sunita Maurya, 2010; Pourmorad *et al*, 2006). Folin-Ciocalteu no es muy específico ya que no detecta todos los grupos fenólicos encontrados en los extractos. Otra desventaja de este ensayo es la interferencia de los componentes en los extractos de alimentos, tales como el ácido ascórbico, que se comportan como agentes reductores (Stalikas, C., 2007).

El análisis de espectro infrarrojo (IR), consiste en que las moléculas orgánicas absorben radiaciones electromagnéticas en la región infrarroja ($4000-650\text{cm}^{-1}$) incrementando su energía rotacional y vibracional. La energía es usada para estiramientos y flexiones de grupos atómicos unidos de modo covalente. En cualquier molécula no lineal con n átomos, el número de absorciones (modos) fundamentales posibles es igual a sus grados de libertad. Como sólo se absorbe energía para las vibraciones atómicas en que se modifica el momento dipolar, la mayoría de las moléculas exhibe menos absorciones que las calculadas. Además de las absorciones fundamentales, pueden aparecer en el espectro; absorciones debidas a los sobretonos, que son $1/10$, $1/100$ menos intensas que las fundamentales, y su frecuencia es múltiplo entero de la frecuencia de la vibración fundamental. También se observan las bandas de combinación de dos o más absorciones. Las absorciones características de sistemas aromáticos entre 2000 y 1000cm^{-1} son sobretonos y combinaciones de bandas fundamentales del sistema CH en la región de $900-650\text{cm}^{-1}$ (Domínguez, X. A., 1973). Espectros infrarrojos han sido comparados con cuidado y se ha encontrado que los hidroxilos fenólicos absorben a $3300-3140\text{cm}^{-1}$, los grupos carbonilo a $1660-1650$ en flavonas, flavonoles e isoflavonas y 1640 en las flavononas. Las sales de antocianidinas dan señales intensas a $3200-3100$, y $1720-1700$, y ancha a $1020-1080\text{cm}^{-1}$ (Domínguez, X. A., 1973).

En un estudio fitoquímico preliminar de la especie *Hibiscus elatus* S.W. por Márquez I, *et al* (1999) el análisis del espectro IR muestra la existencia de hidroxilos, grupos alquílicos, grupo carbonilo y anillos aromáticos por la presencia de bandas a 3375, 3000 - 2980, 1656, 1610, 1600, 1569 y 1519 cm^{-1} . Este espectro presenta bandas características de flavonoides (Lock O., 1988; Mabry TJ., 1970; citado por Márquez, I., *et al*, 1999) y permite detectar la presencia de azúcar en la estructura al existir bandas correspondientes a grupos alquílicos (Márquez, I., *et al*, 1999).

Por otro lado, en un estudio por Pérez, R. (1999) sobre la actividad hipoglucemiante de *Acrocomia mexicana* y *Salpianthus arenarioides* se aislaron dos compuestos del extracto metanólico de cada planta; el primero fue llamado Coyolosa (de *Acrocomia mexicana*) y el otro compuesto aislado fue llamado Salirol (de *Salpianthus arenarioides*), el espectro de IR del extracto metanólico de *Acrocomia mexicana* indicó la presencia de grupos hidroxilos (3400cm^{-1}) y éter (1040cm^{-1}) esta prueba confirmó los resultados de RMN- ^{13}C concluyendo que la coyolosa es un carbohidrato; el espectro infrarrojo (IR) de la coyolosa indicó la presencia de los grupo éter C-O-C (1040 y 1220cm^{-1}) y carbonilo de éster (1740cm^{-1}); el espectro IR del sairol mostró bandas de absorción atribuibles a grupos hidroxilos (3414cm^{-1}) y éter (1069 , 1238 , 1279cm^{-1}) (Pérez, R., 1999).

La mayoría de la evidencia científica revela que los antioxidantes reducen el riesgo de enfermedades crónicas incluyendo enfermedades del corazón. El estrés oxidativo es la principal complicación en la diabetes, he de ahí los intentos por encontrar un antidiabético y terapia antioxidante adecuados. Los compuestos fenólicos han sido reconocidos para deducir el riesgo de enfermedad (Naga V., *et al*, 2012).

La aplicación de compuestos antioxidantes en alimentos, que como se menciona anteriormente, proveen beneficios para personas diabéticas, resulta en el interés del desarrollo de alimentos funcionales para este sector de la población.

2.6. Alimentos especiales

En los últimos años gran parte de la población ha tomado conciencia sobre la importancia de llevar una alimentación correcta, debido a esto se han generado en el mercado nuevos productos enfocados a brindar beneficios adicionales, algunos son bajos en calorías, otros tienen menor cantidad de grasa, algunos otros están adicionados con vitaminas, minerales, fibra, etc. Una variedad de estos productos son los llamados alimentos funcionales (alimentacion-sana.com.ar).

El término alimento procesado se utiliza frecuentemente como sinónimo de alimento funcional, que es suplementado con ingredientes naturales ricos en sustancias capaces de prevenir enfermedades. Se define como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona. El calificativo de funcional se relaciona con el concepto bromatológico de "propiedad funcional", o sea la característica de un alimento, en virtud de sus componentes químicos y de los sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo. En Europa se define alimento funcional a "aquel que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad" (Alvídrez M., *et al*, 2002).

Un producto nutracéutico es cualquier producto que pueda tener la consideración de alimento, parte de un alimento, capaz de proporcionar beneficios saludables, incluidos la prevención y el tratamiento de enfermedades. El concepto de alimento nutracéutico ha sido recientemente reconocido como "aquel suplemento dietético que proporciona una forma concentrada de un agente presumiblemente bioactivo de un alimento, presentado en una matriz no alimenticia y utilizado para incrementar la salud en dosis que exceden aquellas que pudieran ser obtenidas del alimento normal" (Alvídrez M., *et al*, 2002).

Hay otros términos que alguna vez se utilizaron como sinónimos de alimentos funcionales; por ejemplo, los agentes quimiopreventivos son aquellos componentes alimentarios, nutritivos o no que científicamente son investigados para la prevención primaria y secundaria del cáncer, en cuanto a ser potenciales inhibidores de la carcinogénesis. Los farmalimentos (Pharma food) son los alimentos o nutrientes, que ofrecen beneficios saludables, entre ellos la prevención y el tratamiento de enfermedades. También se pueden considerar alimentos funcionales a los llamados alimentos modificados, fortificados y enriquecidos. Se considera como alimento modificado a todo alimento o producto alimenticio con variación en su composición original (con adición de algunos nutrientes, especialmente vitaminas y minerales) para restaurar o aumentar su valor nutricional o para satisfacer las necesidades específicas de alimentación de un determinado grupo de la población. Los productos fortificados son aquellos que tienen suplementos en su contenido natural de nutrientes esenciales. Se fortifican generalmente alimentos a los que se puede agregar valor con poco costo adicional. El término fortificación, es aplicado en aquellas situaciones en las que se añade un determinado nutriente a un alimento que originalmente carecía de él. La adición de yodo a la sal de mesa sería un buen ejemplo de fortificación otros ejemplos son: panificados, cereales para desayuno, lácteos, galletas y pastas. Los productos enriquecidos son los alimentos a los que se les ha adicionado nutrientes esenciales a fin de resolver deficiencias de alimentación que se traducen en fenómenos de carencia colectiva, mediante el enriquecimiento se restauran o se superan los niveles iniciales de los nutrientes perdidos durante la manipulación del alimento (Alvídrez M., *et al*, 2002).

Las bebidas funcionales son un ejemplo de alimento funcional y son aquellas que ofrecen beneficios para la salud y el autocuidado; pueden ser funcionales naturalmente como el té (contiene antioxidantes en forma natural) o pueden adicionarse Nutracéuticos en ellas. El mercado mundial de las bebidas funcionales, está liderado por U.S.A, seguido por Francia. Las bebidas funcionales crecen dos veces más rápido frente a las que no lo son y ofrecen versatilidad en conceptos de valor agregado como practicidad, innovación, saborización y efectos positivos en el consumidor (Naranjo Gómez, 2009).

La presente investigación tiene como objetivo determinar los compuestos activos presentes en extractos acuosos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* que se relacionen con un efecto hipoglucemiante para proponer su uso en el desarrollo de alimentos funcionales para diabéticos tipo II, que permita a este grupo de personas tener un auxiliar en el control de los niveles de glucosa en sangre por medio de la alimentación.

CÁPITULO 3: Materiales y métodos

Etapa 1. Recolección de la muestra

Se recolectaron muestras de *Psittacanthus calyculatus* en el municipio de Tonalá, Jalisco y otras de la Ciudad de Querétaro, Querétaro. Para *Phoradendron tomentosum* se colectaron muestras localizadas a inmediaciones del ejido El Tunal, en General Cepeda, Coahuila, así como muestras del rancho “Santa Margarita de la Quebrada”, en las afueras de la Ciudad de Saltillo, Coahuila.

El muestreo se realizó en mezquites, también se tomaron ejemplares de estos para ser identificados, al igual que los muérdagos, en el herbario de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Etapa 2. Extracción de componentes constitutivos

Tanto para *Psittacanthus calyculatus* como para *Phoradendron tomentosum* se realizaron extracciones mediante diferentes solventes: agua destilada, etanol y metanol. Se utilizaron hojas que no presentaban alguna alteración física o química y se secaron en un lugar fresco y a la sombra hasta alcanzar una humedad de $4.5 \pm 0.1\%$ de humedad. Se llevaron a cabo dos tipos de extracción: a) arrastre por vapor y b) extracción por infusión.

- a) Arrastre por vapor:** Las hojas secas se molieron en un mortero. Luego se realizaron extracciones en una proporción volumen-volumen 1:3 (30mL de hoja en 90mL de solvente), y se sometieron a 90°C para extraer las fracciones mediante destilación por arrastre de vapor.
- b) Extracción por infusión:** Las hojas secas se trituración por medio de un molino Thomas Scientific[®], modelo 3383-L10. Después se prepararon soluciones peso-volumen 1:6 (10g en 60mL), las hojas molidas se colocaron en sacos de tela manta de cielo, por separado; todos los solventes se calentaron a ebullición y luego se agregaron los sacos de *P. calyculatus* y *Ph. tomentosum* por separado, a cada solvente (agua destilada, etanol y metanol). La infusión se sometió a calentamiento por 10 minutos, este procedimiento es parecido a la preparación de té que las personas preparan generalmente.

Etapa 2.1. Concentrado de los extractos obtenidos por infusión

Los extractos se concentraron utilizando un condensador de aire seco frío hasta obtener una mezcla viscosa. Este equipo está ubicado en el laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Otro método fue eliminando el agua con evaporador rotatorio a 37°C. Para corroborar que no hubiera cambios en la presencia de compuestos activos, se corrieron dos placas cromatográficas comparando extractos acuosos: secado en rotavapor y por medio del condensador de aire, al observar que no había diferencias en el arrastre y aunado a esto la eficiencia en tiempos de secado, se decidió que primero los extractos serían colocados en el condensador de aire y luego en el rotavapor a temperaturas a 37°±1°C para eliminar por completo la humedad, resultando al final extractos en polvo.

Etapa 3. Caracterización cualitativa de los compuestos constitutivos de los extractos obtenidos.

Se emplearon pruebas coloridas para la identificación rápida de fenoles, leucoantocianidinas, glucósidos cianogénicos, esteroides y flavonoides tanto para *Ph. tomentosum* y *P. calyculatus*. Estos ensayos se realizaron directamente en la hoja y en los extractos: acuoso, etanólico y metanólico, obtenidos por arrastre por vapor y de la extracción por infusión antes del proceso de secado.

3.1. Reacción cualitativa para fenoles

En un tubo de ensayo se colocó una muestra del extracto (1 a 2mL), se agregaron unas gotas de solución acuosa de cloruro férrico al 5%. Esta prueba se considera positiva si inmediatamente se produce una coloración verde, azul o violeta (Martínez A., *et al*, 2008).

3.2. Reacción cualitativa para flavonoides

En un tubo de ensayo se colocaron limaduras de magnesio, se añadieron 2mL del extracto, luego se dejaron caer lentamente 2 a 3 gotas de HCl concentrado. La aparición de colores naranja, rosado, rojo o violeta indican una prueba positiva para la existencia de flavonoides. Las antocianinas producen un color azul, mientras que las flavonas, isoflavonas y flavonoides producen coloraciones naranja-rojo-azulosa, rojo-violeta o café-anaranjado (Martínez A., *et al*, 2008).

3.3. Reacción cualitativa para leucoantocianidinas

En un tubo de ensayo, se colocaron 2mL de extracto, se añadió 1mL de HCl concentrado, luego se calentó en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos. La aparición de coloraciones rojas indica la existencia de leucoantocianidinas en la muestra (Martínez A., *et al*, 2008).

3.4. Reacción cualitativa para glucósidos cianogénicos

Se colocaron 2 a 3mL de extracto, se agregó 1mL de cloroformo y se introdujo una tira de papel filtro Whatman No.1 con picrato de sodio recién preparado (1g de carbonato de sodio, 100mg de ácido pícrico y 10mL de agua, humedecer en el reactivo y dejar secar las tiras). Las tiras se colocaron a 1cm de las muestras, sin tocar las paredes. Se taparon los tubos y se calentaron a baño maría a 37°C durante tres horas. En esta prueba cambios en el color del papel de amarillo a rojo o rojo-café indican que la prueba es positiva para glucósidos cianogénicos (Martínez A., *et al*, 2008).

3.5. Reacción cualitativa para esteroides (Reacción de Lieberman-Burchard)

Para la preparación del reactivo de Lieberman-Burchard, se mezclaron 5mL de anhídrido acético y 5mL de cloroformo, se enfrió a 0°C, luego se agregaron 2 gotas de ácido sulfúrico (este reactivo se mantiene estable por un día). La prueba consistió en colocar 2mL del extracto, se agregaron 1mL de cloroformo y unas gotas del reactivo L-B, se observaron cambios de coloración al minuto 1, 2, 5, 20 y 60 minutos. Esta prueba se presume positiva si se observan colores verde, azul, rojo o naranja (Martínez A., *et al*, 2008).

Etapa 4. Cuantificación y determinación de compuestos principales de los extractos

En esta etapa se cuantificó el contenido fenólico total y el contenido de flavonoides totales utilizando los extractos secos acuosos, etanólicos y metanólicos tanto de *Psittacanthus calyculatus* como de *Phoradendron tomentosum* obtenidos de la extracción por infusión antes descrita.

4.1. Determinación de compuestos fenólicos totales en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*

Para la determinación de compuestos fenólicos totales (Dhananjay S. & Sunita M., 2010, *modificado por* Rodríguez A., 2013) se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo es sensible a compuestos reductores incluyendo polifenoles, produciendo por consiguiente un color azul bajo la reacción. Este color azul es medido espectrofotométricamente, para determinar el contenido fenólico total (Dhananjay S. & Sunita M., 2010; Pourmorad, *et al*, 2006). Se utilizó ácido gálico como compuesto estándar, los compuestos fenólicos se expresan como mg/mL equivalentes de ácido gálico (GAE) usando la ecuación obtenida de la curva estándar.

Para la curva de calibración se prepararon concentraciones de 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 mg de ácido gálico en metanol. Se colocaron seis tubos de ensaye y se les agregó un 1mL con cada concentración.

Los reactivos se prepararon de la siguiente manera: para la solución madre del estándar ácido gálico (GAE), se colocó 1mg de ácido gálico en un matraz de aforación de 10mL y se aforó con metanol. Se hizo una dilución de Folin-Ciocalteu colocando 1mL del reactivo y agregando 9mL de agua destilada. Se preparó carbonato de sodio al 7.5% en agua destilada.

Para los extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* se prepararon soluciones con una concentración de 0.05g de extracto en 5mL de metanol (0.05g extracto/5mL metanol). Se tomó 1mL de la solución preparada de cada extracto y se colocaron en tubos de ensaye. Con una micropipeta se agregaron 500µL de Folin-Ciocalteu diluido 10 veces a cada tubo; luego se agregaron 250 µL de Na₂CO₃ al 7.5% a cada tubo. Los tubos se taparon con Parafilm[®] y se agitaron en vortex por 30 segundos. La reacción se dejó reposar 30 minutos, posteriormente se tomó la lectura de absorbancia en espectrofotómetro a 760nm.

4.2. Determinación de flavonoides totales en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*

El contenido de flavonoides totales se determinó mediante un método colorímetro modificado por Cheng-Chun & Ming-Yen (2010), descrito previamente por Zishen *et al* (1999) y utilizando catequina como estándar. Los resultados se expresaron como mg de catequina equivalente (mg de catequina/mL de extracto).

Para la curva de calibración se agregaron concentraciones de 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, y 2 mg de catequina en agua destilada. Por otra parte, se disolvieron 0.05g de extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* en 10mL.

Se tomaron 250µL de la solución estándar así como de los extractos de *P. calyculatus* y *Ph. tomentosum*, se mezclaron con 1,250µL de agua destilada y 75µL de NaNO₂ al 5%. Se dejó reposar la reacción por 6 minutos. Después de este tiempo se agregaron 150µL de AlCl₃ al 10% para luego reposar 5 minutos la reacción. Por último se agregaron 50µL de NaOH 1M y 275µL de agua destilada. La lectura de absorbancia se tomó a 510nm (Cheng-Chun & Ming-Yeng, 2010).

Etapa 5. Prueba de infrarrojo en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*

Los extractos secos de las plantas se sometieron a análisis de prueba de Infrarrojo (IR) para la detección de grupos funcionales presentes.

Se utilizó un equipo FT-IR/ATR (Perkin Elmer 1100X) en el cual se colocaron pequeñas muestras de los extractos secos obtenidos de la extracción por infusión de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*.

CÁPITULO 4: Resultados y discusiones

4.1. Resultados sobre la recolección de la muestra

Las muestras recolectadas en Tonalá, Jalisco, se identificaron previamente y se confirmó la identificación en el herbario de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), habiendo identificado la especie como *Psittacanthus calyculatus* con las siguientes características: fruto ovoide negro, flores anaranjadas y hojas largas verdes bien definidas. Se cambió el lugar de recolección a la Ciudad de Querétaro, Querétaro, debido a una mayor disponibilidad de la muestra.

Con respecto a las muestras colectadas en el rancho “Santa Margarita de la Quebrada”, ubicado en las afueras de la Ciudad de Saltillo, Coahuila, se llevaron al herbario de la UAAAN en donde se determinó que se trataba de la especie *Phoradendron villosum*, en la cual las hojas eran más alargadas y menos pubescentes, además el tono era verde opaco. En tanto que los ejemplares recolectados a inmediaciones del ejido El Tunal, en General Cepeda, Coahuila, resultaron ser positivas para la especie *Phoradendron tomentosum*, que presentaba hojas en forma de escamas y más pubescentes, característica de *Ph. tomentosum*, fruto globoso blanco o transparentoso y hojas verde-amarillosa pálido. Además se observó que uno de los árboles de donde se recolectó *Ph. tomentosum* formaba parte de un ecosistema constituido por el mezquite, el muérdago, biznagas y roedores que habitaban en él.

Una vez que se confirmaron las especies de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* se continuó con las siguientes etapas de trabajo.

4.2. Resultados sobre extracciones y evaluación de componentes constitutivos

El porcentaje de humedad de las hojas utilizadas para la obtención de los extractos fueron de $4.62\% \pm 0.54\%$ en *Phoradendron tomentosum* y $4.68\% \pm 0.32\%$ en *Psittacanthus calyculatus*.

- a) Resultados en extracciones de arrastre por vapor para *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*: se utilizaron agua, etanol y metanol como solventes, las muestras se trataron hasta obtener extracto suficiente para realizar las pruebas cualitativas; al mismo tiempo se realizaron las pruebas directamente sobre las hojas secas de las plantas. Todos los resultados de las pruebas cualitativas en las extracciones mediante destilación por arrastre de vapor fueron negativos, como se muestra en las tablas 3 y 4, sin embargo, algunos de los resultados de las pruebas realizadas directamente en la hoja resultaron positivas.

Tabla 3. Resultados de pruebas de identificación de fitoquímicos en *Phoradendron tomentosum* en hojas y en extracciones por medio de arrastre por vapor.

Compuesto valorado	Extracción acuosa	Extracción metanólica	Extracción etanólica	Prueba directa en hojas
Esteroles	-	-	-	+
G. cianogénicos	-	-	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	+
Flavonoides	-	-	-	+
Fenoles	-	-	-	+

Tabla 4. Resultados de pruebas de identificación de fitoquímicos en *Psittacanthus calyculatus* en hojas y en extracciones por medio de arrastre por vapor.

Compuesto valorado	Extracción acuosa	Extracción metanólica	Extracción etanólica	Prueba directa en hojas
Esteroles	-	-	-	+
G. cianogénicos	-	-	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	+
Flavonoides	-	-	-	-
Fenoles	-	-	-	+

Aguilar C. (2001) realizó pruebas cualitativas de fenoles, flavonoides y leucoantocianidinas en extracto metanólico de *Phoradendron tomentosum* los cuales también resultaron negativos; y pruebas de esteroles y glucósidos cianogénicos directamente en la hoja que coinciden con los de la tabla 3. Sin embargo, en la actual investigación se aplicaron cada una de las pruebas anteriores en los extractos acuosos, metanólicos y etanólicos así como en las hojas secas, y se observó que en las hojas de *Ph. tomentosum* también había presencia de leucoantocianidinas, flavonoides y fenoles.

Con los resultados obtenidos en las pruebas aplicadas directamente en las hojas (tabla 3 y 4) se concluyó que el tipo de extracción empleada no era el adecuado para esta investigación.

- b) Resultados de extracciones por infusión: Las extracciones que se realizaron con agua, etanol y metanol y fueron sometidos a las mismas pruebas de reacción colorida. Las tablas 5 y 6 se muestran los resultados de las pruebas aplicadas en el extracto obtenido por infusión.

Tabla 5. Resultados de pruebas de compuestos fitoquímicos en hojas y extractos por infusión de *Phoradendron tomentosum*.

<i>Phoradendron tomentosum</i>				
Compuesto	Directo en hoja	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto etanólico
Esteroles	+	+	-	-
G. cianogénicos	-	+	-	-
Leucoantocianidinas	+	+	-	-
Flavonoides	+	+	+	+
Fenoles	+	+	-	-

Tabla 6. Resultados de pruebas de compuestos fitoquímicos en hojas y extractos por infusión de *Psittacanthus calyculatus*.

<i>Psittacanthus calyculatus</i>				
Compuesto	Directo en hoja	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto etanólico
Esteroles	+	+	+	+
G. cianogénicos	-	-	+	-
Leucoantocianidinas	+	+	-	+
Flavonoides	-	+	+	+
Fenoles	+	+	+	+

A pesar del contenido de clorofila en los extractos, fue posible apreciar las diferentes coloraciones de las reacciones cuando resultaron positivas, o en su defecto, ningún cambio cuando arrojaron pruebas negativas. Palacios M. (2008) menciona que el inicio para la identificación de compuestos activos es la implementación de un tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico, con esto se determina cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, se puede orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Estos análisis consisten en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación; deben ser rápidas, sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación (farmacognosia-farmacialuladech.mx).

Resultados de la prueba de infrarrojo en extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum*

Esta prueba permite la identificación de grupos funcionales con los cual se puede determinar de manera general la presencia de compuestos activos identificando las bandas de absorción que están relacionadas con la posición de los grupos funcionales presentes en la estructura del compuesto.

Dentro del espectro IR del extracto etanólico de *Phoradendron tomentosum* aparecen bandas de 3225, 2919, 2849, 1686, 1598, 1515, 1268, 1177-1119, 1073, 1036 cm^{-1} . Por otra parte, el IR del extracto metanólico de *Phoradendron tomentosum* mostró resultados similares con bandas de 3254, 2921, 2848, 1685, 1623, 1514, 1448, 1376, 1265-1253, 1073, 1042 cm^{-1} . En cuanto al extracto acuoso, los valores destacados de IR fueron de 3265, 2923, 2848, 1686, 1623, 1595, 1514, 1445, 1373, 1322, 1265-1254, 1176-1118, 1069, 1028 cm^{-1} .

Es notable que en los espectros de IR de los tres extractos (acuoso, metanólico y etanólico) de *Phoradendron tomentosum*, las lecturas de las bandas no difieren mucho, estas variaciones en las lecturas se pueden deber a las diferencias de concentración de los compuestos o las cantidades de muestra sometidas en el espectro IR, además según Márquez, I., *et al*, (1999) y Domínguez, X. A., (1973) comparan espectros infrarrojos y encuentran que los hidróxilos fenólicos absorben a $3300-3140\text{cm}^{-1}$, los grupos carbonilo a $1660-1650\text{cm}^{-1}$ en flavonas, flavonoles e isoflavonas y 1640cm^{-1} en las flavanonas. Las sales de antocianidinas dan señales intensas a $3200-3100$, y $1720-1700$, y ancha a $1020-1080\text{cm}^{-1}$ (Domínguez, X. A., 1973) así como la existencia de hidroxilos, grupos alquílicos, grupo carbonilo y anillos aromáticos por la presencia de bandas a 3375 , $3000 - 2980$, 1656 , 1610 , 1600 , 1569 y 1519 cm^{-1} Márquez, I., *et al*, concluyen que este espectro presenta bandas características de flavonoides (Lock O., 1988; Mabry T.J., 1970; citado por Márquez, I., *et al*, 1999) y permite detectar la presencia de azúcar en la estructura al existir bandas correspondientes a grupos alquílicos (Márquez, I., *et al*, 1999).

Como se puede apreciar en los resultados del espectro IR de los tres extractos de *Phoradendron tomentosum* los grupos funcionales presentes son: hidroxilos fenólicos, grupos alquílicos, grupos carbonilo y anillos aromáticos flavonoides, azúcar, flavanonas y posiblemente flavonas, flavonoles e isoflavonas.

En las figuras 7, 8 y 9 se observan los espectros IR de los extractos de *Phoradendron tomentosum*.

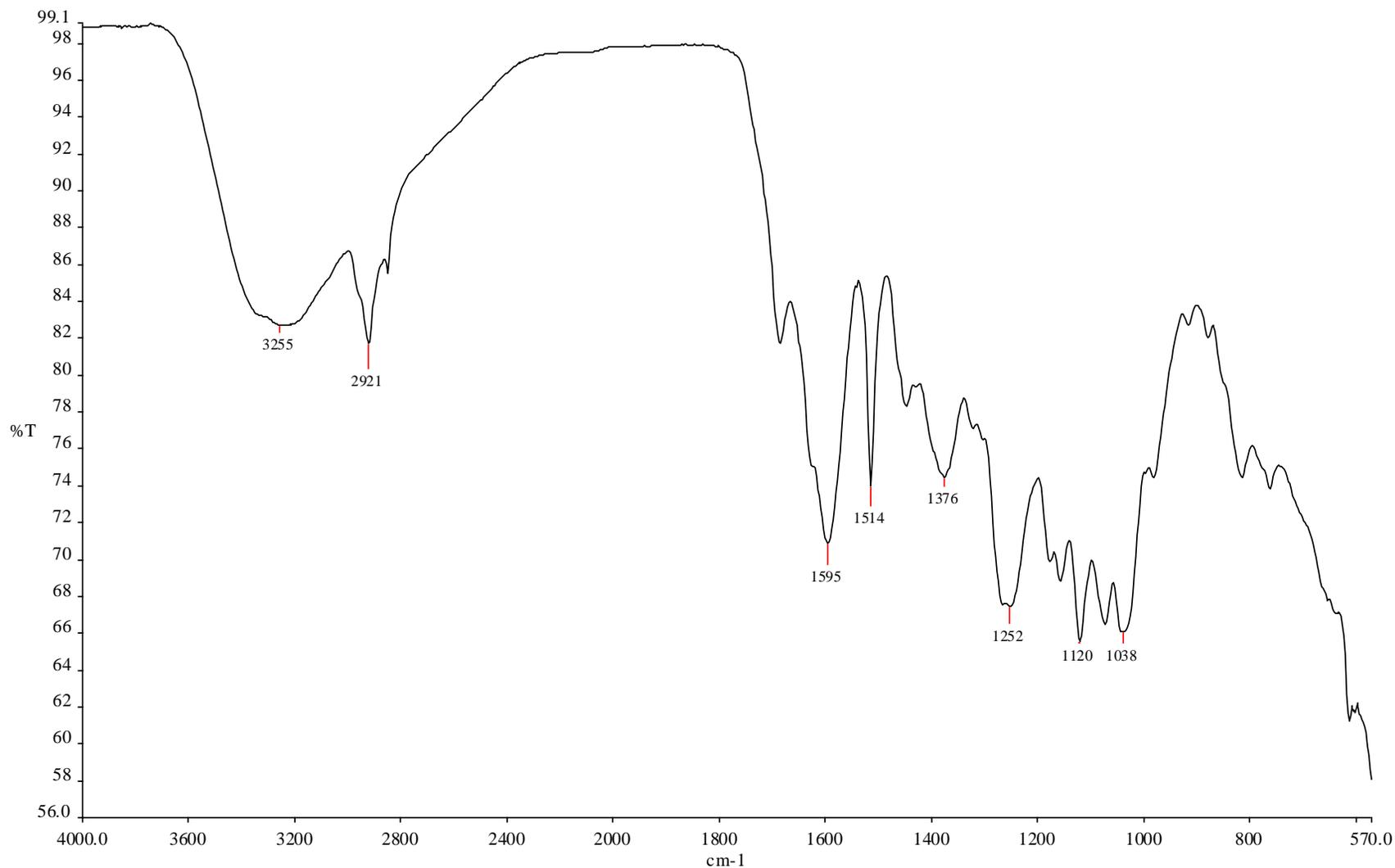


Fig. 7. Espectro infrarrojo (ATR) del extracto acuoso de *Phoradendron tomentosum*.

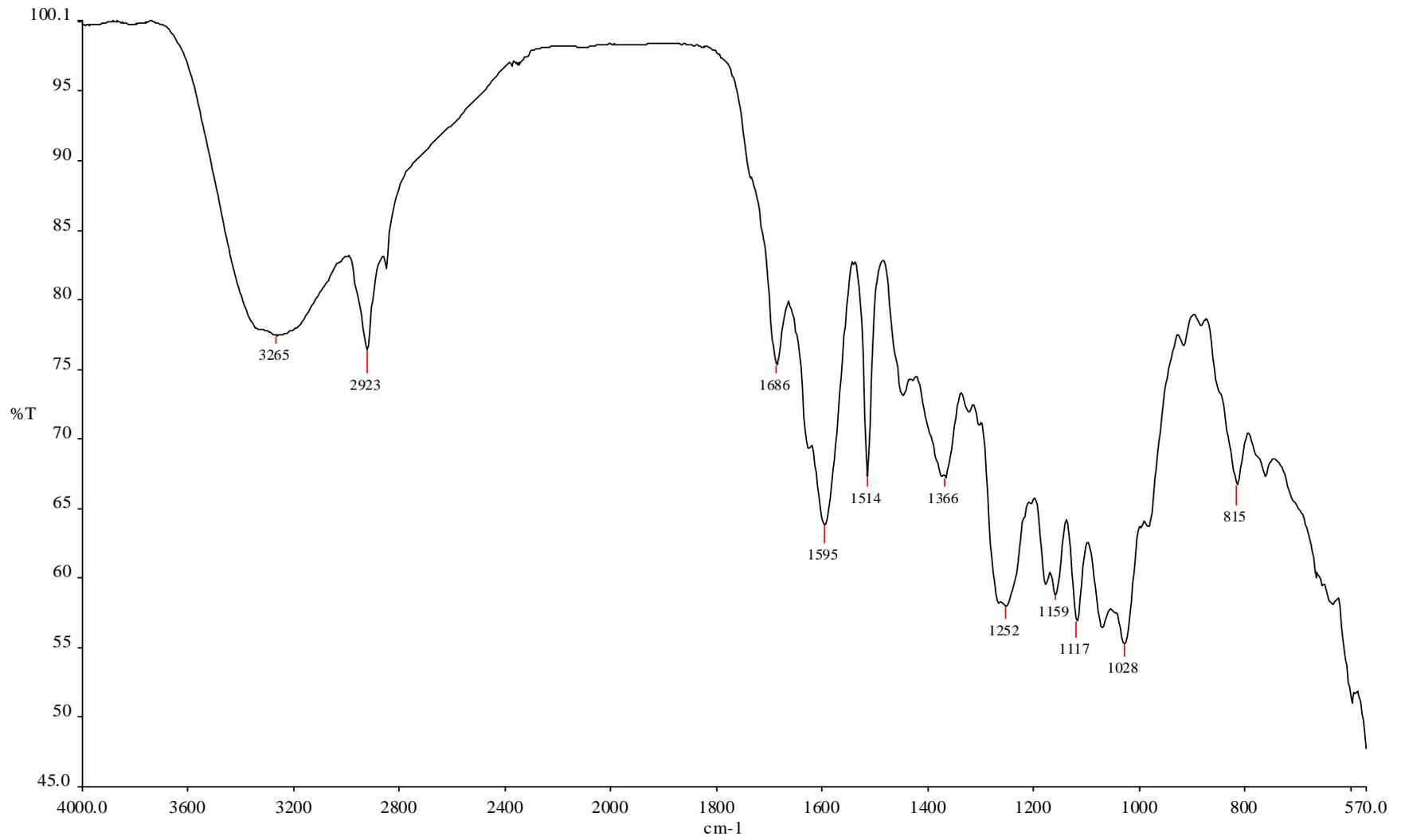


Fig. 8. Espectro infrarrojo (ATR) del extracto metanólico de *Phoradendron tomentosum*.

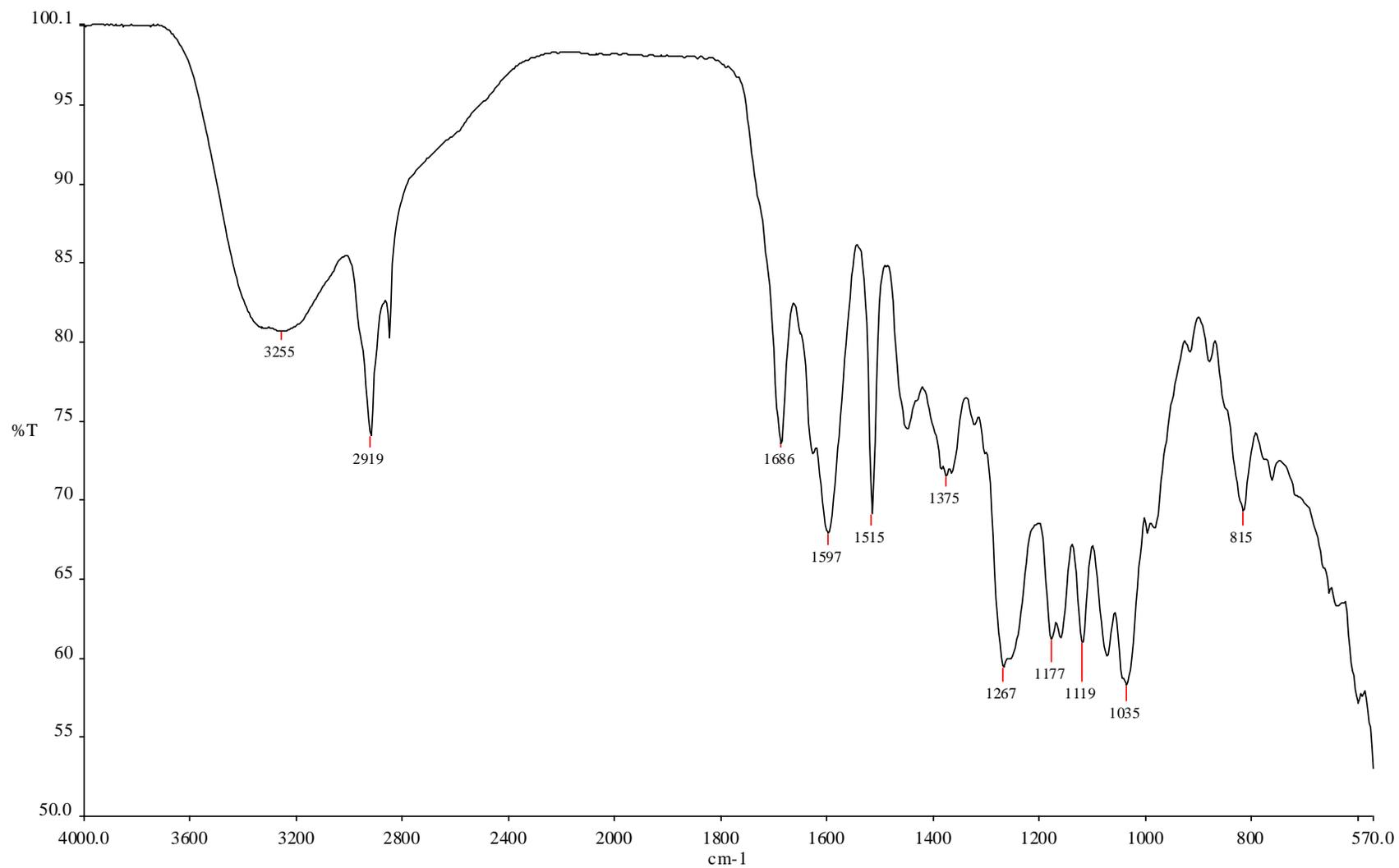


Fig. 9. Espectro infrarrojo (ATR) del extracto etanólico de *Phoradendron tomentosum*

Respecto a los espectros infrarrojos de *Psittacanthus calyculatus* para el extracto metanólico se registraron bandas de 3278, 2917, 2849, 1711, 1615, 1513, 1452, 1350-1317, 1205, 1066, 1035, 902-667 cm^{-1} . El espectro IR del extracto etanólico de *Psittacanthus calyculatus* arrojó lecturas de 3321, 2916, 2848, 1735-1615, 1513, 1462, 1375, 1309, 1204, 1171, 1066, 1034, y 917-719 cm^{-1} . Finalmente, para el extracto acuoso las lecturas de las bandas de absorción fueron de 3205, 2917, 2848, 1717, 1603, 1445, 1348, 1216, 1066, 1038 y 878-667 cm^{-1} .

El comportamiento de las lecturas de los infrarrojos de los tres extractos de *Psittacanthus calyculatus* no varían mucho entre sí, sin embargo, el comportamiento de los gráficos se muestra muy diferente a los de *Phoradendron tomentosum*. A pesar de esto, en base a la descripción de Domínguez, X.A. (1973) se puede suponer la presencia de hidroxilos fenólicos en los tres extractos (3300-3140), posibles antocianidinas en el extracto acuoso; y según Márquez, I., *et al*, (1999) la presencia de grupos hidroxilos, grupos alquílicos, grupo carbonilo y anillos aromáticos por la presencia de bandas a 3375, 3000 - 2980, 1656, 1610, 1600, 1569 y 1519 cm^{-1} , Márquez, I., *et al*, (1999) concluyen que el espectro anterior presenta bandas características de flavonoides (Lock O., 1988; Mabry T.J., 1970; citado por Márquez, I., *et al*, 1999) pues detecta la presencia de azúcar en la estructura al existir bandas correspondientes a grupos alquílicos (Márquez, I., *et al*, 1999).

Los espectros infrarrojos de los extractos de las plantas *P. calyculatus* y *Ph. tomentosum*, mostraron una diversidad de bandas debido a que se analizaron directamente los extractos naturales, sin embargo, en base a la literatura antes citada se puede suponer la presencia de hidroxilos fenólicos, flavonoides, monosacáridos y posiblemente antocianidinas (*P. calyculatus*) y flavonas, flavonoles e isoflavonas (<*Ph. tomentosum*).

En las figuras 10, 11 y 12 se muestran los espectros infrarrojos de los extractos de *Psittacanthus calyculatus*.



Fig. 10. Espectro infrarrojo (ATR) del extracto acuoso de *Psittacanthus calyculatus*.



Fig. 11. Espectro infrarrojo (ATR) del extracto metanólico de *Psittacanthus calyculatus*.

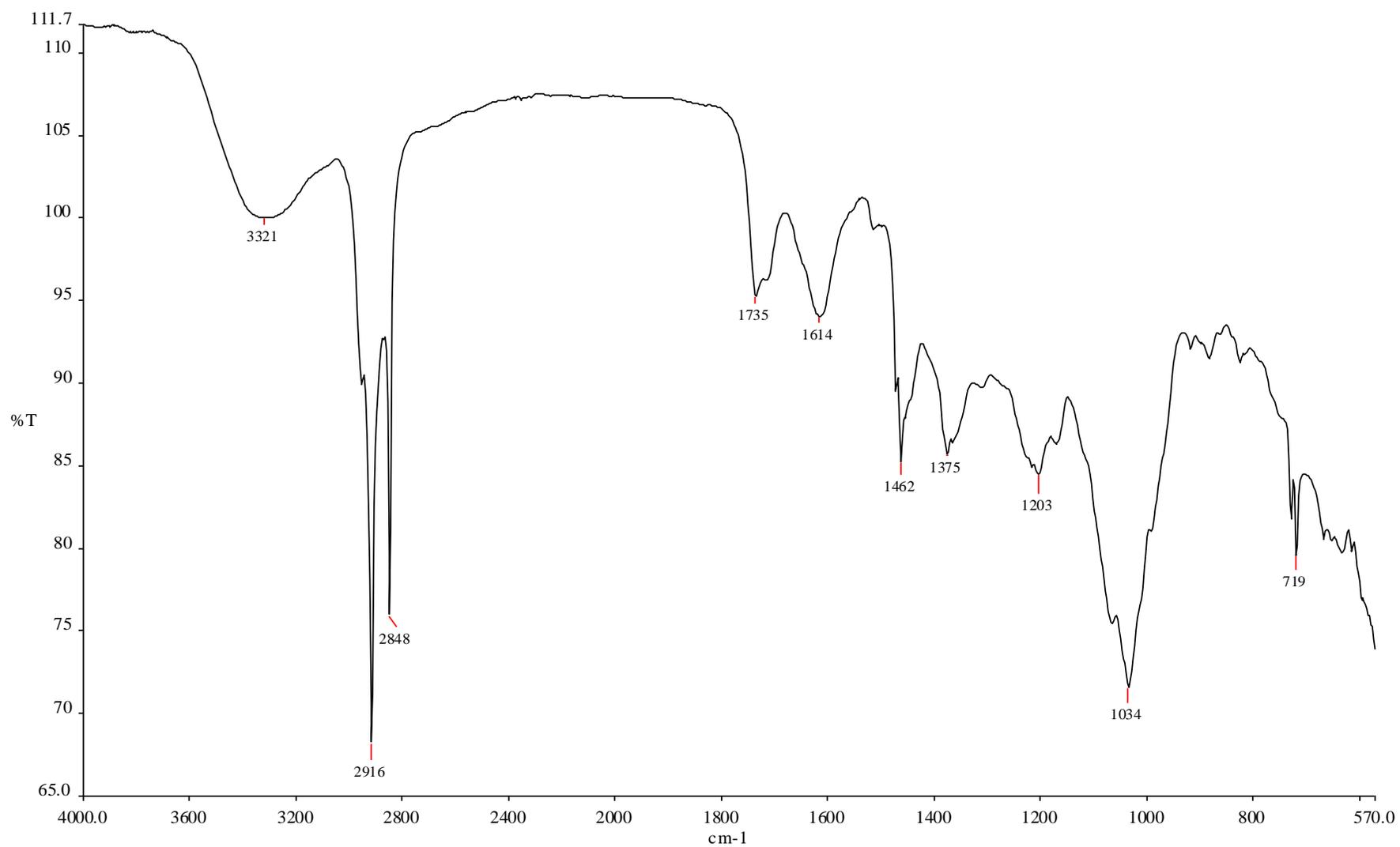


Fig. 12. Espectro infrarrojo (ATR) del extracto etanólico de *Psittacanthus calyculatus*.

Resultados de la determinación de compuestos fenólicos totales

La tabla 7 presenta las medias del ANOVA con una $p \leq 0.05$ en mg/mL de compuestos fenólicos totales presentes en las muestras de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para los diferentes solventes empleados.

Tabla 7. Resultados del contenido de fenólicos totales en *P. calyculatus* y *Ph. tomentosum*.

Planta	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto etanólico
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	0.520 A	0.505 AB	0.460 B
<i>Phoradendron tomentosum</i>	0.535 A	0.455 B	0.480 B

Los resultados de la tabla 7 se graficaron y se presentan en la figura 13.

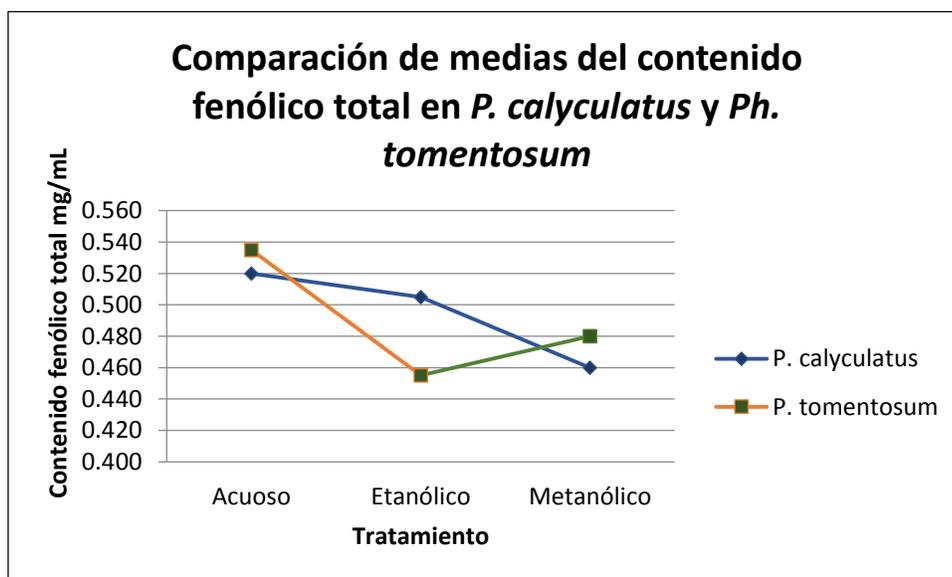


Fig. 13. Comparación de medias del contenido fenólico total en los extractos de *Ph. tomentosum* y *P. calyculatus*.

De la tabla 7 y la figura 11 es posible apreciar que el extracto acuoso presenta mayor contenido de compuestos fenólicos totales con diferencias estadísticamente significativas entre los demás extractos. Entre los extractos metanólico y etanólico de *Ph. tomentosum* y el extracto metanólico de *P. calyculatus* no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto al contenido fenólico total, de acuerdo al análisis de varianza realizado (Anexo 1), mientras que el contenido de fenólicos en el extracto etanólico de *P. calyculatus* es ligeramente mayor que en los anteriores sin embargo sigue interconectado con ellos.

Resultados de la determinación de flavonoides totales

La tabla 8 presenta las medias del ANOVA con una $p \leq 0.05$ en mg/mL de flavonoides totales presentes en las muestras de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para los diferentes solventes empleados.

Tabla 8. Resultados del contenido de flavonoides totales en *P. calyculatus* y *Ph. tomentosum*.

Planta	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto etanólico
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	1.217 C	0.267 D	0.500 E
<i>Phoradendron tomentosum</i>	2.033 A	1.500 A	2.007 B

Los resultados de la tabla 8 se graficaron y se presentan a continuación en la figura 14.

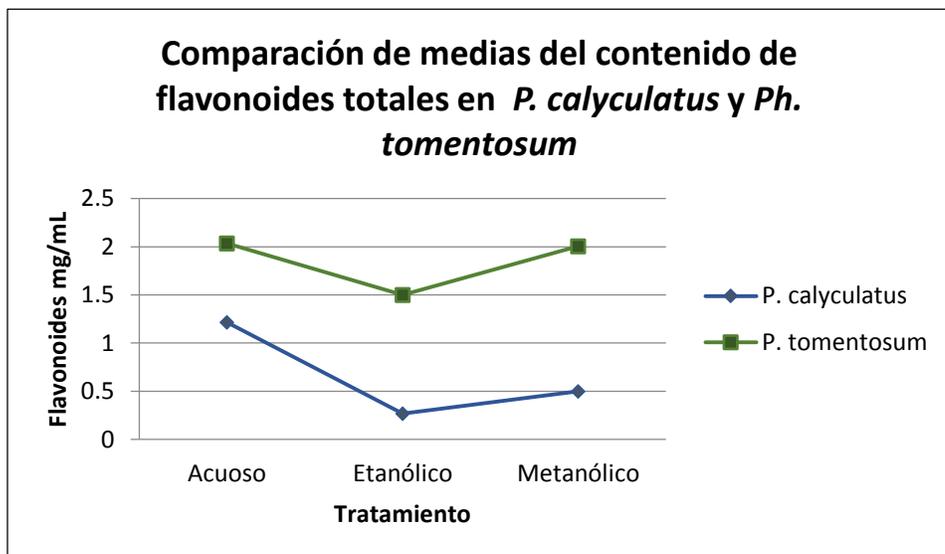


Fig. 14. Comparación de medias del contenido de flavonoides totales de los extractos de *Ph. tomentosum* y *P. calyculatus*.

De la tabla 8 y de la figura 12 es posible apreciar las diferencias significativas entre ambas especies, teniendo que los extractos de *Phoradendron tomentosum* son los que tienen un mayor contenido de flavonoides totales; entre el extracto acuoso y metanólico de *P. tomentosum* no hay diferencias significativas mientras que en el etanólico sí las hay. En tanto que en *Psittacanthus calyculatus* hubo diferencias significativas entre cada solvente, el mayor contenido de flavonoides totales se presentó en el extracto acuoso, seguido del extracto metanólico y por último el etanólico.

CAPÍTULO 5: Conclusiones

1. Se determinó que las plantas recolectadas en la ciudad de Tonalá, Jalisco y la ciudad de Querétaro, Querétaro, correspondían a la especie *Psittacanthus calyculatus*. El hospedero se identificó como *Prosopis laeviagata*, mezquite común en el centro del país. La planta recolectada en General Cepeda, Coahuila, correspondía a la especie *Phoradendron tomentosum*, el hospedero se identificó como *Prosopis glandulosa*, mientras que la muestra recolectada en el rancho “Santa Margarita de la Quebrada”, Saltillo, Coahuila, se identificó como *Phoradendron villosum*, especie que presenta hojas con menos pubescencia, de color verde y hojas más alargadas que *Phoradendron tomentosum*, por lo que se descartó de este estudio.
2. La extracción por infusión en medio acuoso resultó ser la más adecuada, esto en base a los resultados del análisis cualitativo presentando la mayor concentración de compuestos de interés en ambas plantas (esteroles, glucósidos cianogénicos, leucoantocianidinas, flavonoides y fenoles para *Phoradendron tomentosum* y esteroles, leucoantocianidinas, flavonoides y fenoles para *Psittacanthus calyculatus*).
3. Los resultados de las pruebas cualitativas en las extracciones de arrastre con vapor resultaron negativas para los extractos de ambas plantas por lo que este método se descartó de la presente investigación.

4. El mayor contenido de fenoles totales se presentó en el extracto acuoso de *Phoradendron tomentosum* seguido del extracto acuoso de *Psittacanthus calyculatus* aunque estadísticamente no hubo diferencias significativas entre el contenido fenólico total de los extractos de ambas plantas. El mayor contenido de flavonoides totales se correspondió al extracto acuoso de *Phoradendron tomentosum* seguido de los extractos etanólico y metanólico de la misma planta. Para *Psittacanthus calyculatus* el extracto acuoso también presentó un alto contenido de flavonoides en comparación con los otros extractos de esta planta.
5. Los extractos acuosos de ambas plantas utilizando el método por infusión resultaron ser las muestras con mayor contenido fenólico y de flavonoides siendo *Phoradendron tomentosum* la especie con mayor presencia de estos compuestos.
6. El análisis infrarrojo confirmó la presencia de grupos funcionales correspondientes a flavonoides y monosacáridos presentes en los extractos de las plantas.
7. El alto contenido de compuestos fenólicos y de flavonoides totales en los extractos acuosos secos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus* permite utilizarlos en el desarrollo de alimentos funcionales para diabéticos tipo 2 ya que para el control de esta enfermedad y sus complicaciones se recomiendan compuestos alimentos con alta cantidad de antioxidantes. Por las características de solubilidad del extracto acuoso concentrado se recomienda su aplicación en una bebida.

Bibliografía

1. Aguilar Cuestas Gloria (2001). Determinación de la actividad hipoglucemiante de *Phoradendron tomentosum* (Dc) Engelm, sobre un modelo de ratas diabéticas de experimentación. Tesis M. C. con especialidad en Química de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Biológicas. UANL.
2. Alarcón Aguilar Francisco (1990). Investigación del efecto hipoglucémico de plantas usadas por la población mexicana para el control de la diabetes mellitus. Tesis M. B., UAM, Iztapalapa, México, D.F.
3. Alvidrez Morales Alicia, González Martínez Blanca Edelia, Jiménez Salas Zacarias. Facultad de Salud Pública y Nutrición. RESPYN Revista de salud pública y nutrición. 2002. 3.
4. Andrade-Cetto Adolfo & Heinrich Michael. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. Journal of Ethnopharmacology. 2005. 325–348.
5. Aynur Büyükbalci & Sedef Nehir El. Determination of In Vitro Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas. Springer Science + Business Media. 2008. 27, 28, 32, 33.
6. Bah Moustapha, Gutiérrez-Avella Dora Marina, Fuentes-Ordaz Raúl, Castañeda-Moreno Raquel and Martínez Mahinda. Chemical Constituents of the Mexican Mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*). Journal molecules. 2011. 9397-9399, 9401.

7. Barbosa Filho José, Vasconcelos Tereza, Alencar Adriana, Batista Leônia, Oliveira Rinalda., Guedes Diego, Falcão Heloína, Marcelo D. Moura, Margareth F.F.M. Diniz, Modesto Filho João. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2005. 15 (4). 393-395, 400.
8. Beltrán Martínez, C. A.; Ibarra Alvarado, C.; Rojas Molina, A. Efecto vaso-relajante del extracto acuoso de *Psittacanthus calyculatus*. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
9. Calzado Flores C. 2004. Estudio longitudinal de la actividad hipoglucemiante de la *Phoradendron tomentosum (d.c.) Engelm* (injerto de mezquite) en un modelo animal de diabetes experimental. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León.
10. Domínguez Xorge Alejandro. Métodos de investigación fitoquímica. 1ra edición. México, D.F., Ed. Limusa S.A., 1973. 86,245,246.
11. Federación Internacional de Diabetes. Diabetes, Atlas de la FID, 5ª Edición, 2012
12. Márquez Hernández I., Cuellar Cuellar Armando, Martínez Pérez Jorge, Alemán Sánchez Alejandro, Lora García Janette y Vélez Castro Hermán. Estudio fitoquímico de la especie *Hibiscus elatus* S.W. *SCIELO Revista Cubana de Farmacia*. 1999
13. Martínez M. Alejandro, Valencia P. Gloria, Jiménez U. Nora, Mesa Mónica, Galeano J. Elkin. Departamento de Farmacia (2008, primavera). *Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica 2008*. Medellín: Universidad de Antioquia.

14. Ming-Yen Juan, Cheng-Chun Chou. Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soy beans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC14715. *ELSEVIER Food Microbiology*. 2010. 587.
15. Moustapha Bah Mamadou, Ibarra Alvarado C., Rojas A., Mendoza S, Hernández Sandoval L., Martínez M. Vasoactive and antioxidant activities of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases. *PubMed*. 2010. 732
16. Naga Vamsi Krishna, B. V. Raman, B. Narasimha Rao, M. Pardha Saradhi, M. V. Basaveswara Rao. Plants with antidiabetic activities and their medicinal values. *International research journal of pharmacy*. 2012. 3 (3). 11-12.
17. Naranjo Gómez Elizabeth. *Bebidas Funcionales, una necesidad saludable*, Revista Alimentos. Bogotá, Colombia. 2009.
18. Nordberg, J., Arner, E. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*, 2001; 31: 1287-1312.
19. Øyvind M. Andersen & Kenneth R. Markham. *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications*. 1st ed. New York. Taylor & Francis Group. 2006.
20. Pérez Gutiérrez Rosa Martha (1997). Tesis postgrado. Actividad hipoglucemiante de *Salpianthus arenarius*, *Acrocomia mexicana*, *Agarista mexicana* y *Verbesina persicifolia*. Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas. UAM.
21. Pourmorad F., Hosseinimehr S. J., Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2006. Vol. 5 (11), 1142-1145.

22. Romero Cerecero Ofelia, Reyes Morales Hortensia, Aguilar Santamaría Lucía, Huerta Reyes Maira, Tortoriello Garcia Jaime. Use of medicinal plants among patients with diabetes mellitus type 2 in Morelos, Mexico. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 8, núm. 5, septiembre, 2009, Universidad de Santiago de Chile, pp. 380-388, Chile.
23. Solís Gracia, V., Gómez Sánchez, M. 2005. Inventario de las especies de muérdagos en la zona sur del Estado de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.
24. Stalikas Constantine D.; Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science* 2007. 3268-3295.
25. Sunita Maurya & Dhananjay Singh. Quantitative Analysis of total phenolic content in *Adhatoda vasica* nees extracts. *International Journal of Pharm Tech Research*. 2010. 2404, 2405.
26. Valencia Ortiz, Ciria. Fundamentos de Fitoquímica. 1ra edición, México, D.F., Ed. Trillas. 1995. 127-132.
27. Vázquez Collazo, I. y B. W. Geils, 2002. *Psittacanthus* in Mexico. Cap 2 en: B. W. Geils, J. Cibrián Tovar y B. Moody (eds.), *Mistletoes of North American conifers*. General Technical Reports RMRS-GTR-98. US Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Ogden, Utah. 123 p.

Citas electrónicas.

1. (alimentacion-sana.com). Anónimo.
<< <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/Nutricion/alim.func.htm>>>
Consultado el 25 de Mayo de 2011, 8:48pm.

2. (biosiam.org). Anónimo
<<<http://www.biosiam.org/portal/species/browse/resource/1/taxon/154934/>>>,
consultado el 3 de abril de 2013, 3:20pm
3. (diabetes.org). Anónimo << <http://www.diabetes.org/espanol/todo-sobre-la-diabetes/diabetes-tipo-2/afecciones-y-tratamiento/>>> Consultado el 10 de Marzo de 2011, 5:27pm
4. (diabetesatlas) Anónimo <<<http://archive.diabetesatlas.org/es/content/what-diabetes-es>>> Consultado el 10 de marzo de 2011.
5. (datos.sndb.mincyt.gob.ar). Anónimo
<<<http://datos.sndb.mincyt.gob.ar/portal/species/browse/resource/80/taxon/7042292/>>>, Consultado el 3 de abril de 2013, 2:00pm
6. (vivecondiabetes.com). Anónimo <<<http://vivecondiabetes.com/basicos-de-diabetes/estadisticas>>>. Consultado el 3 de Febrero de 2013, 10:48am.
7. (conafor.gob). Anónimo
<<<http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/15/4010Distribuci%C3%B3n%20de%20Plagas%20y%20Enfermedades%202011.pdf>>>, consultado el 23 de marzo de 2013, 11:50am.
8. (imss.gob.mx¹). Anónimo
<<http://www.imss.gob.mx/dpm/dis/Tabla.aspx?ID=SCRM07_01_00_00_11&Opc=opc02&SRV=M00-1>> Última modificación: 2011/02/07, 13:00hrs. Fuente: Sistema Institucional de Mortalidad (SISMOR), Información preliminar. Consultado el 5 de Marzo de 2011. 5:08pm.

9. (imss.gob.mx²). Anónimo
<<http://www.imss.gob.mx/dpm/dis/Tabla.aspx?Srv=M00-1&ID=SCES006_001_001&OPC=opc03>> Última modificación: 2011/02/07, 13:00 hrs. Fuente: DATA MART-Estadísticas Médicas. Consultado el 5 de marzo de 2011, 5:20pm.
10. (medicosgeneralescolombianos.com). Anónimo
<<http://www.medicosgeneralescolombianos.com/Diabetes_II.htm>> Última modificación 4 de Octubre de 2010. Consultado el 10 de Marzo de 2011.
11. (med.unne.edu.ar). Chaves O. Ramiro, B.I. de la Vega Ricardo, B. de la Vega Eduardo. <<http://med.unne.edu.ar/revista/revista106/hipoglu_orales.html>>. Consultado el 5 de febrero de 2013, 3:00pm.
12. (innatia.com). Jorge J. Esteban << <http://www.innatia.com/s/c-remedios-para-diabetes/a-medicina-natural-diabetes.html>>> Consultado el 15 de marzo de 2011, 6:58pm.
13. Palacios P. María. <<<http://farmacognosia-farmacialadech.blogspot.mx/>>> Consultado el 30 de mayo del 2013, 10:43am.
14. Valadez Blanca <<<http://www.milenio.com/node/673399>>> Consultado el 27 de Marzo de 2011, 11:43am
15. (who.int). Zhang Xiaorui
<<http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/>> Consultado el 10 de junio del 2013, 12:01pm

Anexos.

Análisis de Varianza de la determinación de compuestos fenólicos totales en extractos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus*.

Anexo 1. Análisis de varianza de la determinación de compuestos fenólicos totales. Niveles no conectadas por la misma letra son significativamente diferentes.

Especie y tratamiento	Niveles		Cuadrados mínimos
<i>Ph. tomentosum</i> ,acuoso	A		0.535
<i>P. calyculatus</i> ,acuoso	A		0.520
<i>P. calyculatus</i> ,etanólico	A	B	0.505
<i>Ph. tomentosum</i> ,metanólico	A	B	0.480
<i>P. calyculatus</i> ,metanólico		B	0.460
<i>Ph. tomentosum</i> ,etanólico		B	0.455

Análisis de Varianza de la determinación de flavonoides totales en extractos de *Phoradendron tomentosum* y *Psittacanthus calyculatus*.

Anexo 2. Análisis de varianza de la determinación de flavonoides totales. Niveles no conectadas por la misma letra son significativamente diferentes.

Especie y tratamiento	Nivel				Cuadrados mínimos
<i>Ph. tomentosum</i> ,Acuoso	A				2.0333333
<i>Ph. tomentosum</i> ,Metanolico	A				2.0066667
<i>Ph. tomentosum</i> ,Etanolico		B			1,5
<i>P. calyculatus</i> ,Acuoso			C		1.2166667
<i>P. calyculatus</i> ,Metanolico				D	0.5
<i>P. calyculatus</i> ,Etanolico				E	0.2666667