



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS Y BIOLÓGICAS
“DR IGNACIO CHAVEZ”
DIVISIÓN DE POSGRADO
MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS

“Cuantificación de metabolitos secundarios en extractos de flor de *Spathodea campanulata* y su efecto hipoglucemiante en ratas con diabetes tipo 2”

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Licenciada en Nutrición Humana
Tania Yatzely Sánchez Calvillo

Directora de tesis
D. en C. Bertha Fenton Navarro

Co-director de tesis
D. en C. José Miguel Cervantes Alfaro

Morelia, Michoacán octubre de 2021

El Comité Tutorial designado por la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo aprobó la tesis presentada por

Licenciada en Nutrición Humana
Tania Yatzely Sánchez Calvillo

Doctora en Ciencias Fisiológicas
María de la Luz Torner Aguilar

Doctor en Ciencias Biología Celular
Carlos Cortés Penagos

Doctora en Ciencias Químico-biológicas
Martha Eva Viveros Sandoval

La presente investigación se realizó en:

Laboratorio de Glicobiología

División de Estudios de Posgrado

Facultad De Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”

Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo

A cargo de D. en C. Bertha Fenton Navarro

DEDICATORIAS

A mi hija Natalie, por ser mi mayor motivación.

A mis padres María y Miguel y mi hermana Michelle por siempre darme su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional De Ciencia Y Tecnología.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

A la División de Estudios de Posgrado de Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”.

A mi directora de tesis D en C Bertha Fenton Navarro, por aceptarme como su estudiante, por su tiempo, enseñanzas, por haberme guiado desde el primer día y ayudarme a ampliar mi visión de mi vida profesional.

A mi co director de tesis D en C José Miguel Cervantes Alfaro, por sus consejos y guía para poder realizar la tesis, por su tiempo y por haber compartido sus conocimientos.

A mi comité Tutorial, D en C María de la Luz Torner Aguilar, D en C Carlos Cortés Penagos y D en C Martha Eva Viveros Sandoval por cada una de sus observaciones y sugerencias.

INDICE GENERAL

- I. Índice de figuras
- II. Índice de tablas
- III. Lista de abreviaturas
- IV. Glosario de términos
- V. Resumen
- VI. Abstract

Contenido

VI. Abstract	16
1. INTRODUCCIÓN.....	17
1.1 Alteraciones metabólicas en la diabetes mellitus	18
1.2 Complicaciones de la diabetes mellitus	20
1.3 Mecanismos de acción de los fármacos hipoglucemiantes.....	20
1.4 Efectos adversos de los fármacos hipoglucemiantes.....	22
1.5 Plantas medicinales y su efecto hipoglucemiante	24
1.6 <i>Spathodea campanulata</i>	28
2. JUSTIFICACION.....	29
3. HIPOTESIS	31
4. OBJETIVO GENERAL	31
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
4.1.1 Cuantificar fenoles, polifenoles y flavonoides contenidos en flores de <i>Spathodea campanulata</i> con diferentes solventes.....	31
4.1.2 Medir el potencial antioxidante <i>in vitro</i> de flores de <i>Spathodea campanulata</i>	31
4.1.3 Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto de flores de <i>Spathodea campanulata</i> en ratas con diabetes mellitus tipo 2.	31
5. MATERIALES Y METODOS	32
5.1 Obtención de flores de <i>Spathodea campanulata</i>	32
5.2 Obtención de extractos de flores de <i>Spathodea campanulata</i>	32
5.3 Cuantificación de metabolitos secundarios	32
5.3.1 Cuantificación de fenoles totales	32
5.3.2 Cuantificación de polifenoles	33
5.3.3 Cuantificación de flavonoides.....	33
5.3.4 Medición <i>in vitro</i> de actividad antioxidante	34

5.4 Modelo de DM2 en ratas.	34
5.4.1 Inducción de diabetes experimental	34
5.4.2 Administración de tratamiento	34
5.4.3 Evaluación de la capacidad hipoglucemiante de plantas.....	35
5.4.3.1 Curva de tolerancia de la glucosa	36
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
7. RESULTADOS	37
7.1 Cuantificación de fenoles totales, polifenoles y flavonoides	37
7.2 Determinación de actividad antioxidante <i>in vitro</i>	41
8. CONCLUSION	57
9. PERSPECTIVAS.....	58
10. REFERENCIAS.....	59
11. ANEXO	68

I. INDICE DE FIGURAS

No.		Pág.
1	Representación de la biosíntesis de los metabolitos secundarios.	25
2	Porcentaje de inhibición de DPPH por ácido ascórbico y extractos de flor de <i>Spathodea campanulata</i> .	41
3	Curva de tolerancia a la glucosa con extracto acuoso de flores de <i>Spathodea campanulata</i> en modelo de diabetes tipo 2.	44
4	Normalización de datos expresado en porcentaje de reducción de glucosa sanguínea en animales diabéticos administrados con el extracto acuoso de flores de <i>Spathodea campanulata</i> .	45
5	Curva de tolerancia a la glucosa con extractos de diferentes solventes de flores de <i>Spathodea campanulata</i> en modelo de diabetes tipo 2.	36
6	Normalización de datos expresado en porcentaje de reducción de glucosa sanguínea en animales diabéticos administrados con el extracto de flores hojas de <i>Spathodea campanulata</i> utilizando diferentes solventes.	37

II. INDICE DE TABLAS

No.		Pág.
1	Efectos adversos de los hipoglucemiantes orales	21
2	Actividad farmacológica reportada de <i>Spathodea campanulata</i>	27
3	Contenido de fenoles presentes en la flor de <i>Spathodea campanulata</i>	35
4	Contenido de polifenoles presentes en la flor de <i>Spathodea campanulata</i>	36
5	Contenido de flavonoides presentes en la flor fresca de <i>Spathodea campanulata</i>	25
6	Contenido de flavonoides presentes en la flor seca de <i>Spathodea campanulata</i>	38
7	Actividad antioxidante <i>in vitro</i> en extractos de flor de <i>Spathodea campanulata</i>	40
8	Porcentajes de reducción en curvas de tolerancia a la glucosa del extracto acuoso de flores de <i>Spathodea campanulata</i>	41
9	Curva de tolerancia a la glucosa con extracto de diferentes solventes de flores de <i>Spathodea campanulata</i>	44

III. LISTA DE ABREVIATURAS

HbA1c	Hemoglobina glucosilada	EA	Eficiencia anti radical
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición	DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1		
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2		
CTOG	Curva de tolerancia oral a la glucosa		
O₂-	Radical superóxido		
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno		
OH-	Hidroxilo		
DNA	Acido desoxirribonucleico		
AR	Aldosa reductasa		
AGE	Agentes de glicación avanzada		
G3P	Gliceraldehido-3-fosfato		
DAG	Diacilglicerol		
PKC	Proteína cinasa C		
Rpm	Revoluciones por minuto		
PVPP	Polivinilpolipirrolidona		
AlCl₃	Tricloruro de aluminio		
mgEAG/g	Miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto		
mgEF/g	Miligramos equivalentes de fluoroglucinol por gramo de extracto		
mgEQ/g	Miligramos equivalentes de quercertina por gramo de extracto		

EC50	Cantidad necesaria de antioxidante para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH
TEC50	Tiempo necesario para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH

IV. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Antioxidante	Molécula que interactúa directamente con el agente oxidante formando un radical menos activo.
Biguanidas	Antidiabético oral que actúa reduciendo la producción hepática de glucosa y su absorción intestinal, e incrementando la sensibilidad de la insulina en los tejidos diana.
Efecto adverso	Problema médico inesperado que sucede durante el tratamiento con un medicamento u otra terapia.
Estrés oxidativo	Desequilibrio entre los radicales libres en el cuerpo y los antioxidantes disponibles para combatirlos.
Extracto	Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
Exantema	Erupción de la piel, de color rojizo y más o menos extensa, que suele ir acompañada o precedida de fiebre.
Fitoterapia	Tratamiento médico de algunas enfermedades basado en el empleo de plantas y sustancias vegetales.

Glucemia	Presencia de glucosa en sangre.
Hiperglucemia	Aumento anormal de los valores de glucosa en sangre.
Hipoglucemiante	conjunto heterogéneo de fármacos que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia.
Insulina	Hormona producida por el páncreas, que se encarga de regular la cantidad de glucosa de la sangre.
Metabolismo primario de las plantas	Procesos químicos que intervienen de forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas
Metabolito primario	Compuestos químicos que intervienen en los procesos vitales de las plantas. Aminoácidos, proteínas, nucleótidos, azúcares.
Metabolito secundario	Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, al contrario que los metabolitos primarios, intervienen en la fotosíntesis para la obtención de energía.

Prurito	Picor que se siente en una parte del cuerpo o en todo él y que provoca la necesidad o el deseo de rascarse.
Radical libre	Molécula inestable que se elabora durante el metabolismo normal de las células.
Solvente	Sustancia química en la que se disuelve un soluto.
Sulfonilureas	Grupo farmacológico de antidiabéticos orales, cuyo mecanismo de acción implica la interacción con receptores específicos, localizados en la superficie de la célula beta pancreática, a través de la cual estimulan la secreción endógena de insulina.
Tiazolidinedionas	Fármaco que posee un marcado efecto sensibilizador de la acción insulínica en el receptor y de los mecanismos postreceptor en el tejido hepático y periférico.
Trombocitopenia	Afección en la cual hay un número menor que el normal de plaquetas en la sangre.

V. RESUMEN

Introducción: La Diabetes mellitus es una enfermedad crónico-degenerativa que se caracteriza por la disminución o incapacidad de producción de insulina, por una resistencia a la insulina o ambas. Entre las consecuencias de la diabetes mellitus se encuentran la retinopatía, insuficiencia renal, problemas micro y macrovasculares, así como neuropatías. En la diabetes mellitus al presentarse una continua hiperglicemia es mayor la producción de radicales libres, por lo que se incrementa el estrés oxidativo. Si bien existen tratamientos estandarizados para el control de la diabetes mellitus ocasionan diversos efectos secundarios adversos. Las plantas medicinales ofrecen una alternativa de apoyo, con menor cantidad de efectos secundarios adversos. En una investigación previa dentro de nuestro grupo de trabajo se demostró que las hojas del árbol de *Spathodea campanulata* tienen actividad hipoglucemiante en el mismo modelo experimental, así como efecto neuro protector. **Objetivo general:** Cuantificar los metabolitos secundarios y evaluar el efecto hipoglucemiante de extractos de flores de *Spathodea campanulata* en ratas con diabetes tipo 2. **Metodología:** Se cuantificaron los compuestos fenólicos, polifenoles y flavonoides en el extracto de la flor *S. campanulata*. Se analizó la actividad antioxidante *in vitro* con el reactivo DPPH. Modelo animal: Se utilizaron ratas macho cepa Wistar (a partir de 150g). El estudio se realizó bajo las normas establecidas para investigación en animales de experimentación. Se utilizaron los siguientes grupos (n=6): Grupo I: Ratas sanas con administración de solución salina (SS), Grupo II: Ratas diabéticas con SS, Grupo III: Ratas diabéticas con Metformina (100 mg/Kg), Grupo IV: Ratas diabéticas con administración de extracto de flores de *Spathodea campanulata*. Para la evaluación de la actividad hipoglucemiante aguda se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa. Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba post hoc de Tukey. **Resultados:** En flor de *Spathodea campanulata* (pistilo y brácteas) la mayor cantidad de fenoles se obtuvo utilizando metanol como solvente (2917.71 ± 490.7 mg GAE/g extracto). En cuanto a polifenoles la mayor extracción se obtuvo con acetona en pistilo/brácteas (1165.65 ± 0.11 mg EF/g extracto), la mayor extracción de flavonoides se obtuvo en material seco en comparación con material fresco, con hexano y en la parte de pétalos la mayor concentración (300.39 ± 42.41 mg QRE/g extracto). En la capacidad antioxidante el extracto acuoso tiene muy alta eficiencia anti radical, con metanol y acetona alta y con etanol baja. La flor de *Spathodea campanulata* es hipoglucemiante y no presenta efectos adversos la dosis optima con extracto acuoso fue de 50mg/kg con una disminución 86% en relación niveles glucosa inicial-final al grupo de metformina, sin causar hipoglucemia ni toxicidad. Se normalizan los niveles circulantes de glucosa a partir de los 60 min y se mantuvo estable por el resto del estudio. Con la dosis optima se prosiguió a utilizar los extractos con otros solventes teniendo la siguiente reducción de glucosa inicial-final en comparación con metformina de 19.02%: metanol 110%, etanol 29.54%, acetona 38.01 %, hexano 57.20% y cloroformo no se obtuvo reducción. **Conclusión:** La flor de *Spathodea campanulata* tiene altas concentraciones de compuestos fenólicos, tiene muy alta eficiencia anti-radical y es hipoglucemiante.

Palabras clave: Metabolitos secundarios ,antioxidante, diabetes mellitus, hipoglucemiante, *Spathodea campanulata*

VI. Abstract

Introduction: Diabetes mellitus is a chronic degenerative disease characterized by the decrease or inability to produce insulin, by resistance to insulin or both. Among the consequences of diabetes mellitus are retinopathy, kidney failure, micro and macrovascular problems, as well as neuropathies. In diabetes mellitus, when there is continuous hyperglycemia, the production of free radicals is greater, which is why oxidative stress is increased. Although there are standardized treatments for the control of diabetes mellitus, they cause various adverse side effects, medicinal plants offer a supportive alternative, with fewer adverse side effects. In a previous investigation within our working group, it was shown that the leaves of the *Spathodea campanulata* tree have hypoglycemic activity in the same experimental model, as well as a neuroprotective effect.

General objective: Quantify the secondary metabolites and evaluate the hypoglycemic effect of extracts of *Spathodea campanulata* flowers in rats with type 2 diabetes. **Methodology:** The phenolic compounds, polyphenols and flavonoids in the extract of the *S. campanulata* flower were quantified. In vitro antioxidant activity was tested with DPPH reagent. Animal model: Wistar strain male rats (from 150g) were used. The study was carried out under the rules established for research in experimental animals. The following groups were used (n = 6): Group I: healthy rats with administration of saline solution (SS), Group II: diabetic rats with SS, Group III: diabetic rats with Metformin (100 mg / Kg), Group IV: Diabetic rats with administration of *Spathodea campanulata* flower extract. For the evaluation of the acute hypoglycemic activity, glucose tolerance curves were performed. The results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test. **Results:** In *Spathodea campanulata* flower (pistil and bracts) the highest amount of phenols was obtained using methanol as solvent (2917.71 ± 490.7 mg GAE / g extract). Regarding polyphenols, the highest extraction was obtained with acetone in pistil / bracts (1165.65 ± 0.11 mg EF / g extract), the highest extraction of flavonoids was obtained in dry material compared to fresh material, with hexane and in the part of petals the highest concentration (300.39 ± 42.41 mg QRE / g extract). In the antioxidant capacity, the aqueous extract has very high anti-radical efficiency, with high methanol and acetone and with low ethanol. The *Spathodea campanulata* flower is hypoglycemic and does not present adverse effects. The optimal dose with aqueous extract was 50mg / kg with an 86% decrease in the initial-final glucose level in the metformin group, without causing hypoglycemia or toxicity. Circulating glucose levels normalized after 60 min and remained stable for the rest of the study. With the optimal dose, it was continued to use the extracts with other solvents, having the following initial-final glucose reduction in comparison with metformin of 19.02%: methanol 110%, ethanol 29.54%, acetone 38.01%, hexane 57.20% and chloroform was not obtained. reduction. **Conclusion:** The *Spathodea campanulata* flower has high concentrations of phenolic compounds, has very high anti-radical efficiency and is hypoglycemic.

Key words: Secondary metabolites, antioxidant, diabetes mellitus, hypoglycemic agent, *Spathodea campanulata*

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es un conjunto de trastornos metabólicos de diversa etiología que se caracteriza por la afección del páncreas dando como resultado una disminución y/o nula producción de la insulina, así como un déficit en la función de esta hormona, generando como consecuencia hiperglucemia, que a su vez genera daño crónico afectando a órganos diversos (Federación Internacional de Diabetes, 2020) (Federación Mexicana de Diabetes, 2019) (Organización Mundial de la Salud, 2020).

De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes, 2020 se han descrito diferentes tipos de diabetes; Diabetes mellitus tipo 1 como resultado de la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas, lo que ocasiona una deficiencia absoluta de insulina, tiene una proporción de individuos con DM el 5-10%, es una enfermedad multifactorial en la que participan tanto factores genéticos, ambientales e inmunológicos. El principal gen identificado en la predisposición genética de la DM1 es la región Mayor de Histocompatibilidad (HLA) en el brazo corto del cromosoma 6. En este caso, las células β de los islotes pancreáticos son destruidas por células inmunológicas auto reactivas (Federación Internacional de Diabetes, 2020; Federación Mexicana de Diabetes, 2017; Organización Mundial de la Salud, 2018; Morran et al., 2015).

La diabetes por defectos genéticos de las células beta; MODY se denomina al grupo de diabetes no insulino dependientes que se diagnostican usualmente antes de los 25 años; se ha identificado que la causan al menos 10 mutaciones. Estos pacientes suelen tener estado nutricional normal, resistencia a insulina con o sin historia familiar de DM en tres generaciones. También existe la diabetes mellitus secundaria a enfermedades pancreáticas, las enfermedades que pueden desarrollar la DM son: cáncer de páncreas, fibrosis quística de páncreas. (Sanzana y Durruty, 2016).

Otro tipo de diabetes es la diabetes mellitus gestacional, es un padecimiento caracterizado por intolerancia a los carbohidratos, que resulta en hiperglucemia de severidad variable, que se inicia y reconoce durante el embarazo. La diabetes gestacional se asocia con incremento de las complicaciones para la madre

durante el embarazo y en la vida posterior del feto, neonato, joven y adulto (Allehdan et al., 2020).

Por último, del total de las personas con DM la diabetes mellitus tipo 2 representa el 90 al 95%, a nivel mundial en el año de 2019 se identificaron 463 millones de personas con diabetes mellitus, México para el 2019 ocupó el lugar número seis a nivel mundial, los datos anteriores tienen repercusiones a nivel económico en el país, pues de acuerdo a la Federación Mexicana de Diabetes, el mayor costo de la diabetes son sus complicaciones (con 156.602.4 millones de pesos), seguido de la atención ambulatoria (consultas y pruebas de laboratorio con 17,654.9 millones de pesos), medicamentos (con 4,316.7 millones de pesos) y transporte del paciente (con 921.3 millones de pesos), generando así un total de 179,495.3 millones de pesos, la diabetes representa la segunda causa de defunciones del país. En Michoacán se reporta un total de 40,013 personas con diabetes. Los factores de riesgo para la DM2 se clasifican en modificables, como sobrepeso, obesidad, sedentarismo, hipertensión arterial, factores dietéticos y en no modificables como raza, historia familiar, edad y sexo. El desarrollo de la DMT2 está provocado principalmente por dos mecanismos patogénicos: un progresivo deterioro de la función de las células beta de los islotes pancreáticos que provoca una disminución de la síntesis de insulina y una resistencia de los tejidos periféricos a la insulina que da como resultado un descenso de la respuesta metabólica a la insulina (Del Castillo et al., 2017; Carrera y Martínez, 2013; Palacios et al., 2012; Federación Internacional de Diabetes, 2019; Federación Mexicana de Diabetes, 2019).

Usualmente el diagnóstico se hace bajo los criterios de glucosa en plasma, en ayunas ≥ 126 mg/dl, o ≥ 200 mg/dl dos horas después de una prueba de tolerancia a la glucosa. La Asociación Europea para el estudio de la diabetes, así como la Federación Internacional de Diabetes, incluyó como tercera prueba diagnóstica a la hemoglobina glucosilada ≥ 6.5 (Gil-Velázquez et al., 2013)

1.1 Alteraciones metabólicas en la diabetes mellitus

Se ha demostrado que la hiperglucemia, genera una producción anormal de radicales libres, principalmente de anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), lo que puede dar por resultado el daño por estrés oxidativo. El estrés oxidativo está involucrado en la

apoptosis de las células beta pancreáticas y la resistencia a la insulina. Los radicales superóxido, peróxido de hidrogeno e hidroxilo se producen excesivamente en la mitocondria cuando el oxígeno se reduce de manera incompleta durante la fosforilación oxidativa, estos ocasionan daño celular por oxidación de lípidos, proteínas y en el DNA (Evans et al., 2002; Diaz et al., 2004; Acosta et al, 2011). Las vías metabólicas que se activan durante la hiperglucemia son las siguientes: Vía del sorbitol, conocida como la vía de los polioles es fundamental en la degradación de la glucosa por la aldosa reductasa (AR), esta enzima se localiza en tejidos que no requieren insulina para la captación de glucosa, como: ojo (epitelio corneal, cristalino y pericitos retinales), riñón (podocitos, células mesangiales, epitelio tubular), y nervio periférico (axones y células de Schwann). Cuando la glucosa aumenta la AR se encarga de reducirla a sorbitol. La sobreproducción de sorbitol ocasiona edema celular y axonal por el aumento en la presión osmótica intracelular y bloqueo de la actividad de la ATPasa sodio/potasio en las fibras nerviosas (Chung et al., 2003). También aumenta la acción de productos de glicación avanzada resulta de un enlace covalente entre la glucosa y el grupo ϵ -amino de la lisina de las proteínas plasmáticas y tisulares, o el grupo α -amino terminal de la cadena polipeptídica. El nivel de glucosilación dependerá de la concentración de glucosa y del tiempo de vida media de la proteína. Cuando se glucosilan proteínas de larga vida, como colágeno, sufren reordenaciones irreversibles para formar compuestos más estables, los llamados productos de la glicación avanzada. Durante la formación de los agentes de glicación avanzada (AGE), las proteínas modifican su función, así como su estructura secundaria y terciaria, lo que conlleva a cambios en la permeabilidad de las membranas basales. Antes de la formación de los AGE se generan diferentes intermediarios o precursores que también son tóxicos, como el metilglioxal. La vía de la proteína cinasa C se activa con la acumulación de DHAP (dihidroxí acetona fosfato) y G3P promueve la producción de DAG (diacilglicerol), y la subsecuente activación de la PKC (proteína cinasa C). La PKC es una enzima que tiene 11 isoformas que son importantes en la homeostasis vascular, en estado de hiperglucemia, la actividad de las isoformas α , β y δ de la PKC aumenta en las células endoteliales de retina y riñón debido a un incremento en la concentración de DAG. Cuando la PKC es activada, la producción de la eNOS disminuye mientras que el vasoconstrictor endotelial-1

(ET-1) aumenta, provocando alteraciones del flujo sanguíneo. (Acosta A. y col. 2011; Díaz, M., y col. 2004).

1.2 Complicaciones de la diabetes mellitus

Durante el curso de la enfermedad se desarrolla el riesgo de presentar diferentes complicaciones, que afectan principalmente a las redes vasculares, microvasculares y macrovasculares. Las complicaciones microvasculares pueden dar lugar a la nefropatía, retinopatía y neuropatía diabética. Las complicaciones macrovasculares se caracterizan por originar padecimientos como la aterosclerosis y enfermedad isquémica del corazón (Forbes y Cooper, 2013).

Nefropatía: Se acompaña de la aparición de proteinuria con una reducción concomitante de la tasa de filtración glomerular, que conduce a uremia letal si no se trata, la enfermedad renal también se caracteriza por complicaciones macrovasculares, que incluyen accidentes cerebrovasculares y ataques cardíacos (Ohiagu et al., 2021).

Retinopatía: Inicia una serie de lesiones en la retina, se caracteriza por cambios en la permeabilidad vascular, degeneración capilar, micro aneurismas capilares y producción anormal de vasos sanguíneos. La deficiencia de la visión del color también es otro efecto común de la retinopatía (Frank, 2004).

Tratamiento de la diabetes mellitus

La Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria, establece que en el tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 los medicamentos que pueden utilizarse para su control son sulfonilureas, biguanidas, insulinas o sus combinaciones. Asimismo, se podrán emplear los inhibidores de la α -glucosidasa, tiazolidinedionas. En México la metformina es el medicamento hipoglucemiante más utilizado en el primer nivel de atención y sus volúmenes de ventas a nivel nacional (Rodríguez et al., 2017).

1.3 Mecanismos de acción de los fármacos hipoglucemiantes

Las sulfonilureas son Secretagogos de insulina, inhiben los canales de potasio sensibles a ATP y promueven la liberación de insulina a largo plazo, en las

células β -pancreáticas, la glucosa es transportada al citosol por el transportador de glucosa 2 (GLUT-2), donde interviene en la producción de ATP y disminuye el ADP. El aumento en la glucosa citosólica disminuye entonces la actividad de los KATP, lo que ocasiona que la membrana se despolarice, desencadena un potencial de acción que activa canales de calcio de tipo L dependientes de voltaje y provoca un influjo de Ca^{2+} que origina la exocitosis de gránulos transportadores de insulina (Glamočlija et al. 2010; Gloyun et al., 2006).

En el grupo de las biguanidas la metformina es la más popular y utilizada en este grupo, reduce los niveles elevados de glucosa sanguínea al disminuir la producción hepática de glucosa e incrementar la sensibilidad periférica a insulina, inhibe la absorción intestinal de glucosa incrementa la recaptura de glucosa por musculo esquelético (Ikeda et al., 2000; Rodríguez et al., 2017; Zhou et al., 2001).

Dentro de las tiazolidinedionas como rosiglitazona y pioglitazona, son sensibilizadoras a la insulina al ser agonistas selectivos del receptor peroxisomaproliferador-activado gamma (PPAR γ), un receptor de la membrana nuclear que se expresa principalmente en adipocitos aumentan la expresión de genes involucrados en la adipogénesis y la oxidación de ácidos grasos e interfieren con la expresión y liberación de mediadores de la resistencia a insulina en el tejido adiposo, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), resistina y adiponectina, incrementando la sensibilidad a insulina en músculo e hígado, disminuyen los niveles plasmáticos de hemoglobina glucosilada 1Ac (Hb1Ac) (Stumvoll y Haring, 2002 ; Pavo et al ., 2003).

El otro grupo de fármacos llamados inhibidores α -glucosidasa de su mecanismo de acción se centra en impedir, mediante inhibición competitiva en los vellos intestinales de los enterocitos del borde dentado, que las α -glucosidasas y α -glucosidasa-hidrolasas (glucoamilasas) degraden disacáridos y oligosacáridos a monosacáridos antes de su absorción, retrasando la absorción de glucosa; es decir, se provoca una reducción en la producción de insulina postprandial mediante la atenuación del incremento de glucosa postprandial. Los inhibidores de α -glucosidasa disminuyen la secreción de polipéptidos inhibitorios gástricos y aumentan la secreción del péptido parecido a glucagón 1 (GLP-1) (Hakamata et al., 2009).

Aunque este esquema parecía benéfico, con el tiempo se demostró que era necesario encontrar otras opciones ya que se presentaban fallas secundarias y era imposible evitar las complicaciones cardiovasculares (Zárate et al., 2014).

1.4 Efectos adversos de los fármacos hipoglucemiantes

Si bien existen tratamientos hipoglucemiantes estandarizados que son efectivos, se ha demostrado que favorecen a la aparición de efectos adversos a largo plazo. Se tiene reportado que los fármacos utilizados como hipoglucemiante ocasionan efectos adversos en quienes lo consumen, algunos de estos efectos son: dolor abdominal, diarrea, aumento de peso, anemia, flatulencias, náuseas, vómitos, anorexia, alteraciones del gusto, disminución de la absorción de vitamina B₁₂, acidez gástrica, dolor epigástrico y cefalea (Meetoo et al., 2016).

Tabla 1. Efectos adversos de los hipoglucemiantes orales

(Arroyo et al., 2000)

HIPOGLUCEMIANTE ORAL	EFECTOS ADVERSOS
Sulfonilureas	<ul style="list-style-type: none">• Hipoglucemia• Alteraciones hematológicas: aplasia medular, agranulocitosis, anemia hemolítica y trombocitopenia.• Alteraciones gastrointestinales: Náuseas, vómitos, colestasis.• Alteraciones cutáneas: exantema, purpura, prurito, eritema nodoso, fotosensibilidad• Alteraciones tiroideas: hipotiroidismo• Efecto renal: Secreción inadecuada de ADH• Neumonitis
Biguanidas	<ul style="list-style-type: none">• Alteraciones gastrointestinales: diarreas, náuseas, vómitos, dolor abdominal• Alteraciones gustativas• Acidosis láctica• Efecto anoréxico• Reducción de niveles de vitamina B12
Tiazolidinedionas	<ul style="list-style-type: none">• Alteraciones gastrointestinales: vómitos, náuseas, dolor abdominal, diarrea• Cuadro pseudogripal, rinitis, bronquitis, dolor de espalda

1.5 Plantas medicinales y su efecto hipoglucemiante

Debido a que los usos de fármacos dirigidos a reducir la glucemia provocan efectos adversos a largo plazo, el empleo de fitoterapia en el tratamiento de la diabetes puede ser de utilidad en combinación con la terapéutica convencional, pues hay plantas medicinales con actividad hipoglucemiante comprobada, eficaces y con una baja incidencia de efectos adversos en tratamientos prolongados (López, 2006).

Las plantas medicinales han sido un recurso para la atención de las personas enfermas en las comunidades locales de todo el mundo durante miles de años. Más de una décima parte de las especies vegetales se utilizan en medicamentos. China e India tienen el mayor número de plantas medicinales utilizadas, con 11146 y 7500 especies, respectivamente, seguidas de Colombia, Sudáfrica, Estados Unidos (Shi-Lin et al., 2016).

En estas condiciones, la medicina herbolaria sigue siendo de importancia contemporánea como un recurso de atención primaria de la salud para aproximadamente el 85% de la población mundial y como el origen de estructuras moleculares con posibles acciones y efectos farmacológicos y/o como referentes para la síntesis y desarrollo de nuevos, y el 80% de todos los fármacos derivan de ellos. El creciente interés en la investigación y el análisis de plantas medicinales se refleja en el número de publicaciones recientes, con un aumento de más de tres veces de 4.686 publicaciones durante el año 2008 a 14.884 en 2018 (Fitzgerald et al., 2020).

Estas investigaciones científicas avalan el uso de las plantas, sus extractos o sus compuestos bioactivos contra diferentes patologías crónicas como la diabetes, hipertensión, cáncer, así como efectos antibacterianos, antimicóticos, etc. En México, la importancia de las plantas medicinales no sólo radica en su riqueza como parte de la cultura, sino también en el conocimiento científico que se genera a partir de su estudio y del análisis que se realiza de cuestiones ecológicas, geográficas, culturales, farmacológicas y químicas que constituyen el contexto global. Se calcula que existen entre 3000 y 5000 plantas con potencial terapéutico (Esquivel et al., 2012).

Las plantas contienen glucósidos, alcaloides, terpenoides, flavonoides, carotenoides, entre otros productos de su metabolismo, que podrían estar involucrados en acciones y efectos antidiabéticos. (Patel, et al., 2012).

Durante la fotosíntesis y vía de la pentosa fosfato, se forman compuestos metabólicos primarios, tales como fosfoenolpiruvato (PEP) y D-eritrosa-4- fosfato (E-4-P). El 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato y la enzima 7-fosfato (DAHP sintasa) conduce a la formación de shikimato. luego, por reacciones de desfosforilación, se forma el metabolito corismato, que actúa como iniciador en la síntesis de aminoácidos aromáticos. Las vías del malonato y del shikimato producen flavonoides, las reacciones de condensación y polimerización producen taninos, lignanos, cutina y suberina. Terpenos y terpenoides derivan de un precursor común, isopentenil difosfato (IPP), que se ubiquitina en la vía del mevalonato la condensación de IPP con dimetilalilo pirofosfato genera pirofosfato de geranilo, que es el precursor de los monoterpenos, los compuestos que contienen nitrógeno son derivados de aminoácidos alifáticos; ejemplos de estos son alcaloides y glucosinolatos alifáticos. En los compuestos fenólicos incluyen: incluyen diferentes clases como ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Orozco et al., 2019).

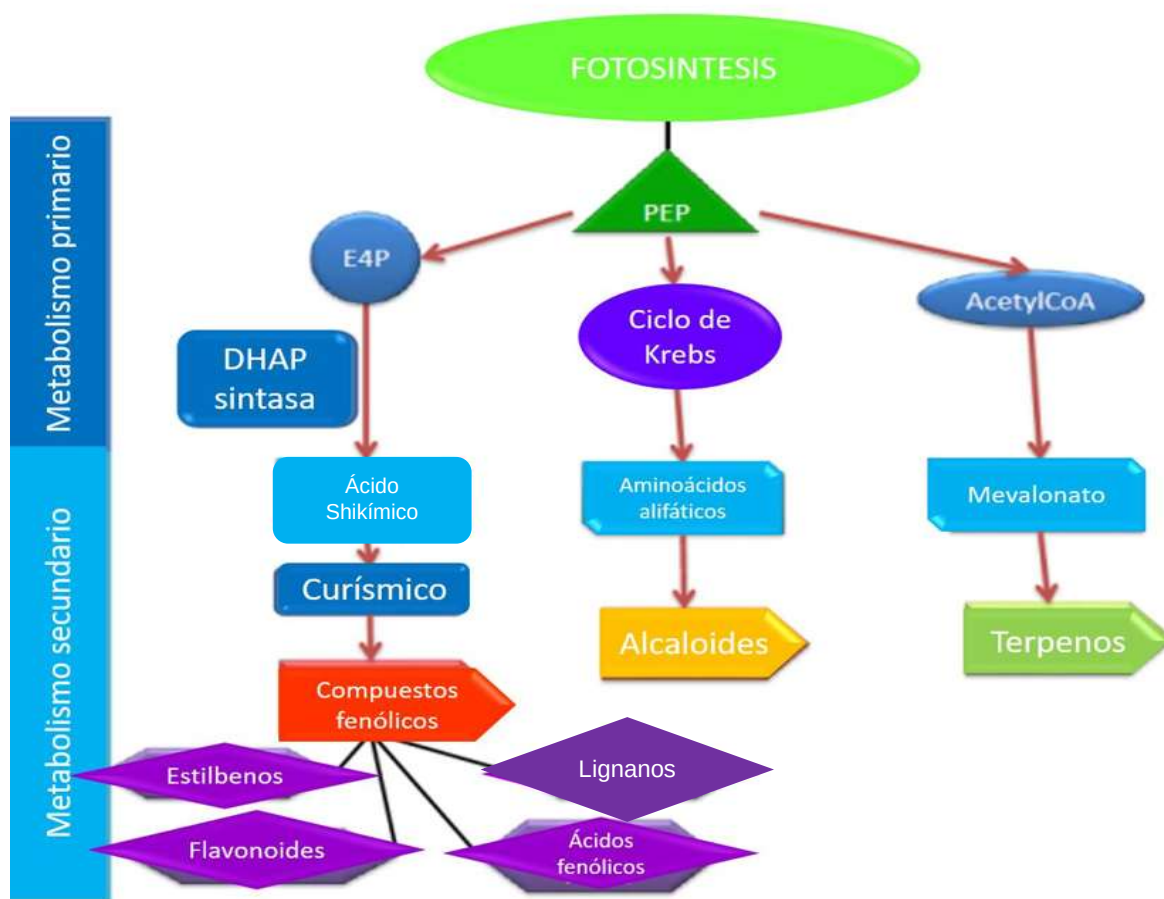


Figura 1. Representación de la biosíntesis de los metabolitos secundarios

Adaptado de Orozco et al., 2019.

Los compuestos fenólicos juegan un papel importante en la pigmentación de las flores, en el color de los pétalos son esenciales para atraer polinizadores y por lo tanto mejorar el éxito reproductivo, en los estambres desempeñan un papel en la germinación del polen o el desarrollo del tubo de polen y en el pistilo tienen la capacidad de garantizar la germinación exitosa del polen (Dudek et al., 2016; Amalesh y Dourange, 2011). La mayoría de los compuestos fenólicos se producen como proceso de aclimatación a estresores ambientales (temperatura, precipitación, radiación solar, etc.), así como, gradientes latitudinales, longitudinales o altitudinales (Del Valle et al., 2015).

Un grupo esencial de los compuestos fenólicos son los flavonoides, contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y poseen así excelentes propiedades de quelación, lo que les confiere una

importante capacidad antioxidante. Por este hecho se han descrito efectos protectores en patologías como diabetes mellitus y sus complicaciones, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, inflamación, entre otras (Delgado et al., 2000).

Los diferentes mecanismos de acción de las plantas medicinales con acción hipoglucemiante, incluyen la inhibición de la reabsorción renal de glucosa la estimulación de la secreción de insulina en las células β del páncreas o la inhibición de los procesos de degradación de la insulina, reducción de la resistencia a la insulina, la regeneración de las células β pancreáticas con el aumento del tamaño y el número de células en los islotes de Langerhans, estimulación de la gluconeogénesis, además de la actividad antioxidante que protege a las células β pancreáticas contra el estrés oxidativo provocado por la diabetes (Hanhineva et al., 2010).

En este sentido se ha documentado el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de flores de *Nycantus arbortristis* en ratones macho con diabetes mellitus tipo 2 en el cual redujeron significativamente los niveles de glucosa en sangre en ayunas respectivamente en un 49 y 39% a las 4 h después del tratamiento, el extracto también exhibió inhibición (16.66%) de actividad de la enzima alfa-amilasa. El tratamiento con el extracto no indujo ningún signo evidente de toxicidad o hepatotoxicidad Rajagopal y colaboradores estudiaron la actividad hipoglucemiante en ratas macho Wistar del extracto de hidroetanol de flores *Nymphaea stellata* midiendo el nivel de glucosa en ayuno y prueba de tolerancia oral a la glucosa en sangre en ratas normoglucémicas y diabéticas inducidas por aloxano, los resultados mostraron que las flores de *N. stellata* no tienen actividad hipoglucemiante en ratas normoglucémicas, pero tienen un antihiperoglucémico actividad en ratas diabéticas Chahdoura y colaboradores demostraron que el extracto de flores de *Opuntia microdasys* en ratas Wistar macho diabéticas mostró efecto inhibidor de α -glucosidasa, mientras que su efecto sobre la α -amilasa fue moderado. También mostró una mejora en el perfil lipídico, el peso corporal, disminuyendo estrés oxidativo y función hepática en condiciones de diabetes (Bramanage et al., 2015; Rajagopal et al., 2008; Chahdoura et al., 2017).

1.6 *Spathodea campanulata*

Conocido como tulipán africano, originario de África, pertenece a la familia Bignoniaceae. Es un árbol que llega a medir hasta 25 metros de alto, posee corteza café oscura, hojas compuestas grandes de 30 a 40cm, con 9 a 15 hojuelas ovaladas de 3 x 2 cm hasta 16x9 cm. El fruto es una cápsula con forma de canoa. Las flores tienen forma de tulipán, son de color rojo-naranja intenso con 10 cm de largo y agrupadas en racimos terminales en las ramas, florecen en el otoño y en el invierno (Francis, 1990).

Varias especies de la familia Bignoniaceae son conocidas por tener alto valor medicinal, se utiliza por los médicos tradicionales africanos para tratar edema, disentería, úlceras, gonorrea, diarrea (Makinde et al., 1988). También es utilizada en la medicina tradicional ruandesa para tratar la diabetes mellitus insulino dependiente y no insulino dependiente (Niyonzima et al., 1999).

En particular una especie de la familia Bignoniaceae Se han realizado estudios fitoquímicos y farmacológicos realizado en diferentes partes de la *Spathodea campanulata* (Tabla 2).

Tabla 2. Actividad farmacológica reportada de *Spathodea campanulata* (Wagh et al., 2018)

Actividad farmacológica reportada	Parte del árbol de <i>Spathodea campanulata</i> utilizada
Hipoglucemiante y actividad anti VIH	Corteza del tallo
Analgésico y antiinflamatorio	Hojas
Antioxidante	Flor y corteza
Potencial hepato-protector	Corteza del tallo
Actividad antimicrobiana	Corteza del tallo
Anti convulsionante	Hojas
Anti fúngico	Raíces

2. JUSTIFICACION

Si bien, existen ya tratamientos estandarizados y establecidos para su control, estos medicamentos solo se concentran en disminuir los niveles de glucosa en sangre, y no actúan sobre los efectos degenerativos de la propia enfermedad, además, los fármacos pueden desarrollar diversos efectos secundarios en quienes los consumen (Meetoo et al., 2016).

También en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2018 se reportó que la mayor prevalencia de diabetes se observa en personas mayores de 60 años con un 13.4%, además es bien sabido que los adultos mayores suelen padecer multi patologías y por lo tanto cursan con un tratamiento poli farmacéutico, por lo que cada vez más se recurre a métodos alternativos como el uso de plantas medicinales como apoyo al tratamiento de diabetes mellitus (ENSANUT, 2018).

México cuenta con una amplia variedad de plantas medicinales que se usan desde la antigüedad, sin embargo, a los productos derivados de las plantas no se les llama medicamentos, por lo cual su regulación pasa al rubro de suplementos alimenticios, y se expiden sin receta médica. Lo que resalta la necesidad de realizar la debida evaluación de estos para garantizar los efectos benéficos, así como para propia seguridad de los consumidores (Figuerola, 2009).

En estudios recientes dentro del laboratorio de Glicobiología en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” se mostró que las hojas del árbol *Spathodea campanulata* contienen compuestos con propiedades hipoglucemiantes y antioxidantes.

Ante estos antecedentes la evaluación de las propiedades hipoglucemiantes y antioxidantes de los componentes bioactivos de la flor completa, así como de cada una de sus partes es de suma importancia, ya que se tiene reportado que en cada parte de la planta varían las concentraciones de metabolitos secundarios, tales como contenido de flavonoides y compuestos fenólicos totales, que podrían obtenerse con diferentes solventes en función de las características de la estructura química de los componentes bioactivos.

Por otra parte, la identificación de la estructura química de los compuestos bioactivos y de procedimientos eficientes de extracción puede ser el punto de partida para investigaciones futuras de otros efectos farmacológicos de los metabolitos secundarios de la planta, con utilidad potencial en otras patologías. (Alirezalu et al., 2020).

3. HIPOTESIS

La administración oral de extracto de flores de *Spathodea campanulata* a ratas diabéticas tiene un efecto hipoglucemiante.

4. OBJETIVO GENERAL

Cuantificar los metabolitos secundarios, capacidad antioxidante *in vitro* y evaluar el efecto hipoglucemiante de extractos de flores de *Spathodea campanulata* en ratas con diabetes tipo 2.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.1.1 Cuantificar fenoles, polifenoles y flavonoides contenidos en flores de *Spathodea campanulata* con diferentes solventes.

4.1.2 Medir el potencial antioxidante *in vitro* de flores de *Spathodea campanulata*.

4.1.3 Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto de flores de *Spathodea campanulata* en ratas con diabetes mellitus tipo 2.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Obtención de flores de *Spathodea campanulata*

Flores de *Spathodea campanulata* fueron recolectadas frente a la Clínica Médica Universitaria de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, con dirección Calzada Ventura Puente #27 Col. Cuauhtémoc, CP 58020, Morelia, Michoacán, México. Así como en Calle Raza Zapoteca S/N Col. Lomas de Santiaguito, CP 58120, Morelia, Michoacán, México.

El material obtenido se herborizó y se envió al Herbario Nacional de México (MEXU) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, para la identificación, clasificación y obtención de número de folio, el cual fue el 1489469 (anexo 1).

5.2 Obtención de extractos de flores de *Spathodea campanulata*

La flor fresca se utilizó después de su recolección, se pesó 1 g de flor completa, y se procedió a homogenizar con 10 ml de cada uno de los solventes: agua, metanol, etanol, acetona, hexano y cloroformo, se hidrató durante 24 horas, después cada extracto se homogenizó, se filtró y se centrifugó (3000 rpm (101g) /30 min) para separar el extracto antes de la cuantificación.

Para las cuantificaciones en flor seca y cada una de sus partes, se dejó secar a temperatura ambiente, después se pulverizó hasta tener un polvo fino, del cual se tomó 1g de muestra más 10ml de solvente agua, metanol, etanol, acetona, hexano y cloroformo, se hidrató durante 24 horas, después cada extracto se homogenizó, se filtró y se centrifugó (3000 rpm (101g) /30 min) para separar el extracto antes de la cuantificación.

5.3 Cuantificación de metabolitos secundarios

5.3.1 Cuantificación de fenoles totales

El ensayo de Folin-Ciocalteu se utilizó como medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu, este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra, dando lugar

a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 760nm. El contenido total de polifenoles de las muestras se calcula como GAE a partir de la curva de calibración de la solución estándar de ácido gálico y se expresan en miligramos de GAE por gramo del extracto (Rana et al., 2013). Se evaluó la concentración de fenoles con cada uno de los solventes por sextuplicado y se reporta como media $\pm$ desviación estándar.

5.3.2 Cuantificación de polifenoles

Se realizó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu. Las muestras problema (extracto acuoso, acetónico y alcohólico), se trató una parte de las muestras con polivinilpolipirrolidona (PVPP), que se une específicamente a los polifenoles en un medio ácido. La diferencia de las absorbancias obtenidas a 760 nm entre la parte tratada y la no tratada de cada muestra problema refleja la concentración de polifenoles. Se utilizó una curva patrón de floroglucinol, y las concentraciones obtenidas se reportaron como mg Equivalentes de floroglucinol/g extracto (Rivero et al., 2006). Se evaluó la concentración de fenoles con cada uno de los solventes por sextuplicado y se reporta como media $\pm$ desviación estándar.

5.3.3 Cuantificación de flavonoides

Se llevó a cabo con el método de Dowd, el cual consiste en utilizar tricloruro de aluminio ($AlCl_3$), el cual es capaz de formar compuestos estables con los flavonoides en metanol; estos compuestos se pueden medir espectrofotométricamente a 415 nm y de esta manera determinar la concentración de flavonoides presentes en los extractos. Los valores de absorbancia que se obtuvieron de las muestras problema (extractos acuosos, acetónico y alcohólico) se interpolaron en una curva patrón de quercetina. El contenido total de flavonoides se expresó en mg Equivalentes de Quercetina/g de extracto. (Ramamoorthy. 2007; Ebrahimzadeh.2010). Se evaluó la concentración de fenoles con cada uno de los solventes por sextuplicado y se reporta como media $\pm$ desviación estándar.

5.3.4 Medición *in vitro* de actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó usando el 1, 1-difenil-2-picril hidrazil (DPPH). El DPPH es conocido como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, la deslocalización del electrón intensifica el color violeta típico del radical. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes. Se mide la absorbancia a 515 nm hasta que la reacción se estabiliza. El parámetro EC50, refleja la cantidad de antioxidante necesaria para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH, se expresa en g ms/g DPPH. También se calcula el tiempo necesario para alcanzar la EC50 (tEC50) y la eficiencia antirradical ($AE = 1/EC50$ tEC50) (Pérez, 2007). Se evaluó la actividad antioxidante con cada uno de los solventes por sextuplicado y se reporta como media $\pm$ desviación estándar.

5.4 Modelo de DM2 en ratas.

Se emplearon ratas Wistar macho, a partir de 150 g de peso, se mantuvieron jaulas de acrílico bajo condiciones controladas de luz-oscuridad 12h/12h y temperatura de 25°C en promedio, con alimento y agua o fructosa al 60% *ad libitum*. Los procedimientos experimentales se realizarán de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

5.4.1 Inducción de diabetes experimental

La inducción de diabetes experimental tipo 2 se realizó con la administración oral de fructosa al 60% *ad libitum* (Dornas et al., 2015) durante 3 meses, después de cumplido este lapso se tomarán muestras sanguíneas de la cola de las ratas, si sus niveles son arriba de 100 mg/dl se considerarán como diabéticas (Dupas et al., 2016).

5.4.2 Administración de tratamiento

Administrados vía oral con una cánula de alimentación animal de 16 G x 3 y curvada de 3 mm (NOM-062-ZOO-1999). Se probaron de forma aguda con base en las guías de toxicidad en animales las siguientes dosis: 5,25,50,150,300,2000 y 5000 mg/kg.

Los animales fueron separados aleatoriamente en los siguientes grupos experimentales (n=6)

Grupo I: Sanos + Extracto

Grupo II: Diabéticos + Solución salina 9%.

Grupo III: Diabéticos + Metformina 100mg/kg.

Grupo IV: Diabéticos + Extracto

5.4.3 Evaluación de la capacidad hipoglucemiante de plantas

5.4.3.1 Elaboración del extracto de flor de *Spathodea campanulata* para obtención de dosis óptima.

Para el primer ensayo de obtención de la dosis optima se realizó el extracto acuoso de la siguiente manera:

Después de la recolección de las flores, se dejaron secar a temperatura ambiente, después se pulverizó hasta tener un polvo fino, del cual se tomó 1g de muestra más 10ml de solvente agua, se hidrató durante 24 horas, después cada extracto se homogenizó, se filtró y se centrifugó para separar el extracto antes del ensayo.

Una vez establecida la dosis optima se procedió a analizar la capacidad hipoglucemiante de los extractos con distintos solventes:

Las flores se dejaron secar a temperatura ambiente, después se pulverizó hasta tener un polvo fino, del cual se tomó 1g de muestra más 10ml de solvente (metanol, etanol, acetona, hexano y cloroformo), se hidrató durante 24 horas, después cada extracto se homogenizó, se filtró y se centrifugó para separar el extracto.

Una vez obtenido el extracto se dejó evaporar el solvente a baño maría hasta obtener un concentrado en forma de pasta, para después pesar la cantidad necesaria de acuerdo al peso de los animales y diluirlo con DMSO hasta obtener el volumen necesario para cada grupo.

5.4.3.1 Curva de tolerancia de la glucosa

Los animales se mantuvieron en ayuno 4 horas previas a los experimentos (Dupas et al., 2016). Se tomaron la glucosa basal y se administró el tratamiento establecido para cada grupo, por vía oral, 30 minutos después se administró una carga de glucosa oral de 1.5 g/kg y se tomaron mediciones de glucosa sanguínea utilizando un glucómetro AccuChek Performa Roche, a los 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 minutos.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una estadística descriptiva y análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas, en caso de obtener una p menor a 0.05 se realizó un análisis post-hoc Tukey, para establecer entre cuales grupos se encuentran las diferencias significativas. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism (versión 6).

7. RESULTADOS

7.1 Cuantificación de fenoles totales, polifenoles y flavonoides

En la tabla 3 expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto se observa que respecto a fenoles con los solventes de agua y metanol en flor completa no existe una diferencia significativa, además de que la parte con mayor concentración de estos compuestos en pistilo y brácteas utilizando metanol con una diferencia significativa respecto a los demás solventes y otras partes de la flor. En cuanto a pétalos y pistilo-brácteas se encontró la mayor concentración en el extracto de metanol.

Tabla 3. Contenido de fenoles (**mg GAE/g extracto**) presentes en extractos de flores de *Spathodea campanulata*

Tabla 3a.

Solvente	Flor completa	Pétalos
Agua	944.76 ± 68.5	1026.54 ± 106 *
Metanol	1082 ± 39.9	2416.72 ± 94.4 a , *
Etanol	651.23 ± 83.53 a	1957.92 ± 31.7 a,b *
Acetona	686.9 ± 95.5 a	630.57 ± 202.3 a,b,c,
Hexano	63.31 ± 13.4 a,b	101.61 ± 10.28 a,b,c , *
Cloroformo	403.76 ± 98.60 a,b,c	103.77 ± 8.23 a,b,c , *

Tabla 3b.

Solvente	Estambres	Pistilo/brácteas
Agua	1476.31 ± 127.46 *,**	1395.39 ± 106.92 *
Metanol	1923.49 ± 409 a, *,**	2917.71 ± 90.7 a, *,**,***
Etanol	937.8 ± 50.28 a,b,*,**	661.5 ± 284.1 a,b, **,***
Acetona	557.84 ± 62.97 a,b,c, *	1039.45 ± 353.4 b,**
Hexano	53 ± 9.0 a,b,c , *,**	179.09 ± 65.22 a,b,c, **
Cloroformo	107.21 ± 8.23 a,b,c,*	149.82 ± 34.4 a,b , *

Los datos se expresan como media $\pm$ DE (n=6), mg Equivalentes ácido gálico (GAE) /g extracto = miligramos equivalentes de fluoroglucinol por gramo de extracto. Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los solventes (a) (P <0.05) Vs agua, (b) (P <0.05) Vs metanol, c (P <0.05) Vs etanol. * (P <0.05) Vs flor completa, ** (P <0.05) Vs pétalos, *** (P <0.05) Vs estambres.

En la tabla 4 podemos observar que en pistilo/brácteas, pétalos y estambres con acetona como solvente se extrajeron la mayor cantidad de polifenoles, seguido de flor completa con agua como solvente. Con los extractos de cloroformo y hexano no se logró la reacción para llevar a cabo la medición.

Tabla 4. Contenido de polifenoles mg EF/g extracto presentes en la flor de *Spathodea campanulata*

Tabla 4a

Solvente	Flor completa	Pétalos
Agua	819 $\pm$ 0.03	63.61 $\pm$ 0.01 *
Metanol	694 $\pm$ 0.05 a	36.26 $\pm$ 0.03 a, *
Etanol	424 $\pm$ 0.05 a,b	460.06 $\pm$ 0.10 a,b
Acetona	613 $\pm$ 0.01 a,b,c	620.67 $\pm$ 0.03 a,b,c
Cloroformo	-	-
Hexano	-	-

Tabla 4b

Solvente	Estambres	Pistilo/brácteas
Agua	22.83 $\pm$ 0.03 *,**	35.82 $\pm$ 0.009 *,**
Metanol	78.53 $\pm$ 0.04 a, **	720.21 $\pm$ 0.86 a, ***
Etanol	387.46 $\pm$ 0.12 a,b	126.16 $\pm$ 0.04 a,b, *,**,***
Acetona	926.47 $\pm$ 0.08 a,b,c, *,**	1165.65 $\pm$ 0.11 a,b,c, *,**,***
Cloroformo	-	-
Hexano	-	-

Los datos se expresan como media $\pm$ DE (n=6), mg Equivalentes de fluoroglucinol /g extracto = miligramos equivalentes de fluoroglucinol por gramo de extracto. Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los solventes (a) (P <0.05) Vs agua, (b) (P <0.05) Vs metanol, c (P <0.05) Vs etanol. * (P <0.05) Vs flor completa, ** (P <0.05) Vs pétalos, *** (P <0.05) Vs estambres

En la siguiente tabla se muestran las concentraciones obtenidas de flavonoides de extractos utilizando la flor fresca, donde se muestra que existe una diferencia significativa respecto a los otros solventes y partes de la flor en pétalos y estambres con cloroformo.

Tabla 5. Contenido de flavonoides **mg QRE /g extracto** presentes en extractos de flor fresca de *Spathodea campanulata*

Tabla 5a

Solvente	Flor completa	Pétalos
Agua	38.03 ± 10.10	52.60 ± 16.10 *
Metanol	61.18 ± 9.25 a	27.33 ± 20.70 a,*
Etanol	89.60 ± 18.64a	54.09 ± 5.42 *
Acetona	69.29 ± 9.42 a	40.82 ± 10.05 *
Hexano	74.55 ± 17.58 a	141.29 ± 27.19 a,b,*
Cloroformo	107.96 ± 12.30 a,b	225.99 ± 39.56 a,b,c , *

Tabla 5b

Solvente	Estambres	Pistilo/brácteas
Agua	28.06 ± 7.22 *,**	15,98 ± 9.33 *,**,***
Metanol	15.00 ± 6.85 a,*,**	26,36 ± 7.39 a,*
Etanol	39.19 ± 2.51 a,b,*,**	89,04 ± 6.09 a,b, *,**,***
Acetona	17.00 ± 3.38 a,**,	41,23 ± 9.42 a,b,*,**
Hexano	149.65 ± 6.72 a,b,c,*	44,58 ± 19.55 a,b,*,**
Cloroformo	191.34 ± 20.30 a,b,c ,*,**	100,15 ± 3.72 a,b,c,**

Los datos se expresan como media ± DE (n=6), mg Equivalentes de quercetina /g extracto = miligramos equivalentes de quercetina por gramo de extracto. Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los solventes (a) (P <0.05) Vs agua, (b) (P <0.05) Vs metanol, c (P <0.05) Vs etanol. * (P <0.05) Vs flor completa, ** (P <0.05) Vs pétalos, *** (P <0.05) Vs estambres.

Por otra parte, respecto a los resultados obtenidos utilizando el material seco de la flor obtuvimos que en flor completa con hexano y pétalos con hexano y agua se obtuvieron las concentraciones más altas en comparación a otras partes y solventes, en estambres se obtuvo la mayor concentración en el extracto de hexano y en el extracto de pistilo – brácteas utilizando agua como solvente.

Tabla 6. Contenido de flavonoides **mg QRE /g extracto** presentes en extractos de flor seca de *Spathodea campanulata*

Tabla 6a

Extracto	Flor completa	Pétalos
Agua	126.85 ± 17.82	274.05 ± 23.43 *
Metanol	88.43 ± 12.86 a	123.17 ± 23.9 a, *
Etanol	117.54 ± 8.81 b,	137.59 ± 8.15 a,
Acetona	107.23 ± 3.93	106.77 ± 21.20 a,
Hexano	289.69 ± 6.72 a,b	300.39 ± 42.41
Cloroformo	196.36 ± 6.08 a,b,c	213.55 ± 5.32 a,b, *

Tabla 6b

Extracto	Estambres	Pistilo/brácteas
Agua	144.76 ± 19.82	155.32 ± 16.3
Metanol	57.02 ± 17.13 a, *, **	88.49 ± 33.89 a, **
Etanol	83.03 ± 8.19 a,b, *	75.22 ± 6.36 a, *
Acetona	97.60 ± 3.32 a	94.86 ± 4.53 a,b
Hexano	239.69 ± 32.65 a,b, *	110.07 ± 3.98 a, *, **
Cloroformo	137.46 ± 10.94 b, *	132.90 ± 5.40 a,b,c, *

Los datos se expresan como media ± DE (n=6), mg Equivalentes de quercetina /g extracto = miligramos equivalentes de quercetina por gramo de extracto. Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los solventes (a) (P <0.05) Vs agua, (b) (P <0.05) Vs metanol, c (P <0.05) Vs etanol. * (P <0.05) Vs flor completa, ** (P <0.05) Vs pétalos, *** (P <0.05) Vs estambres.

7.2 Determinación de actividad antioxidante *in vitro*

Se presenta la gráfica de la cinética realizada utilizando como control el ácido ascórbico, conocido por ser un excelente antioxidante y llegar al casi 100% de inhibición en 30 min, respecto a nuestros extractos, se observa que el extracto de metanol tiene un comportamiento más rápido desde el tiempo 0 a comparación del control y llegando al final a una inhibición del 80%, con extracto de agua y acetona también se observa una acción rápida sin embargo su inhibición llega solo al 50%, por último en los extractos de hexano y cloroformo no se presentó un comportamiento estable. Figura 2

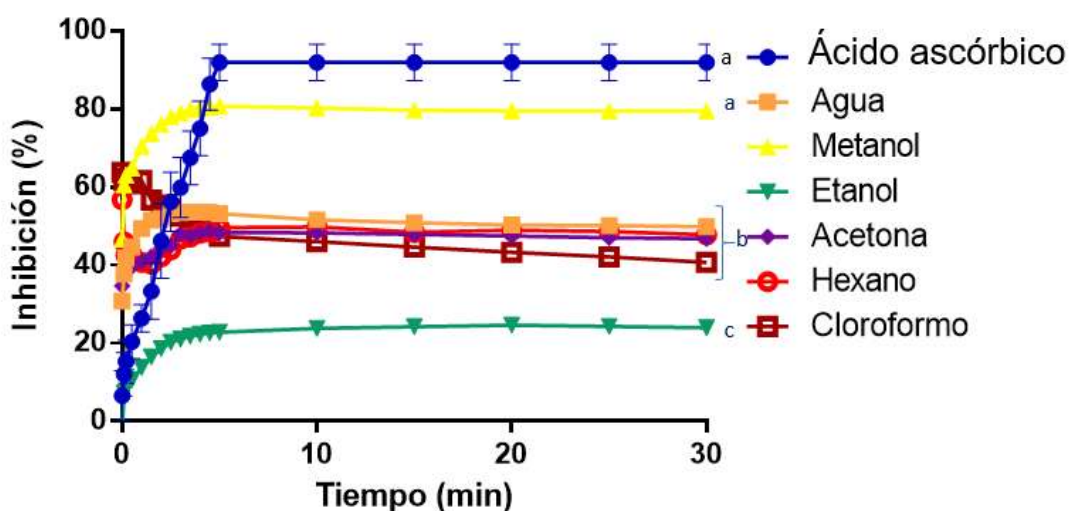


Figura 2. Porcentaje de inhibición de DPPH por ácido ascórbico y extractos de flor de *Spathodea campanulata*. Los datos representan la media $\pm$ DE (n=6). Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los grupos, donde agua, acetona, hexano y cloroformo no presentan diferencias significativas entre sí, y son diferentes a ácido ascórbico.

En la Tabla 7. Se muestran los resultados obtenidos de EC50, TEC50 y la eficiencia anti radical obtenida por calculo con los dos parámetros anteriores, así como el control ácido ascórbico. Siendo el extracto de agua el que presenta mayor eficiencia anti radical, inclusive mayor que el control, los extractos de metanol, acetona presentaron una eficiencia anti radical alta, etanol tuvo una eficiencia anti radical media finalmente con cloroformo y hexano no se obtuvo una respuesta anti radical.

Tabla. 7 Actividad antioxidante *in vitro* de extractos de flores de *Spathodea campanulata*.

		EC50 g flor/kg DPPH	TEC50 Minutos	EA X10⁻³	
Control ascórbico	ácido	78.14 ± 4.5	1.37 ± 0.25	9.304 a	Alta
Agua		5.15 ± 0.41	1.41 ± 1.56	15.24 b	Muy alta
Metanol		16.40 ± 0.29	0.083 ± 0.01	6.06 c	Alta
Etanol		65.27 ± 3.17	16.66 ± 4.08	1.2 d	Media
Acetona		146 ± 1.09	5.91 ± 4.46	6.5 c	Alta
Cloroformo		-	-	-	
Hexano		-	-	-	

Los datos representan la media ± DE (ensayos n=6). EC50= cantidad necesaria de antioxidante para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH; TEC50= tiempo necesario para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH; AE= Eficiencia antirradical; DPPH= 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los grupos (P <0.05).

6.3 Evaluación de la capacidad hipoglucemiante de los extractos de flor de *Spathodea campanulata* con solventes: agua, metanol, etanol, acetona, hexano y cloroformo.

6.3.1 Curvas de tolerancia a la glucosa

En la tabla 8 se presentan los resultados de las curvas de tolerancia a la glucosa con los grupos control y las dosis probadas, en el cual se observa que en el grupo de DM2+SS no existe reducción de la glucemia, en DM2+METFORMINA se presentó una reducción de glucosa en sangre del 19.30% y en cuanto al extracto acuoso observamos que la dosis optima fue de 50mg/kg, ya que con 2000 y 5000 mg/kg se presentó hipoglucemia.

Tabla 8. Porcentajes de reducción en curvas de tolerancia a la glucosa del extracto acuoso de flores de *Spathodea campanulata*.

Tratamiento	Reducción (%) [] inicial-final de glucosa en sangre	Reducción (%) En relación a metformina	Área bajo la curva
Sanas +	5.81 ± 5.22	30.10	78.32
EA50mg/kg			
Solución salina	0	0	100
Metformina	19.30 ± 4.25 b	100	74.74
100mg/kg			
EAQFSC mg/kg			
5	12.31 ± 3.83 b	63.78	94.27
25	7.92 ± 9.89 a	41.03	80.74
50	16.83 ± 6.89 b	83.78	78.71
150	13.51 ± 7.06 b	70.05	71.66
300	10.91 ± 5.64 b	56.52	72.82
2000	25.12 ± 7.25 c	130.15	73.18
5000	37.24 ± 6.32 c	192.95	67.012

Las letras minúsculas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) (ensayos n=6).

En la figura 3 se muestran las curvas de tolerancia a la glucosa obtenidas en animales con diabetes tipo 2, en condiciones de control y con la administración de diferentes dosis de EAQFSC. el grupo control negativo muestra un incremento de la glucemia durante toda la prueba, en cambio el control positivo con tratamiento de metformina presenta una reducción en los niveles de glucosa en sangre desde los 120 minutos de la prueba, cada una de las dosis evaluadas presentó cierta reducción en la concentración de glucosa con diferentes porcentajes, observando que la dosis de 50mg/kg presenta el porcentaje más cercano a metformina sin ocasionar efectos adversos, como la dosis de 2000 y 5000 mg/kg que ocasionó hipoglucemia y diarrea en el modelo experimental.

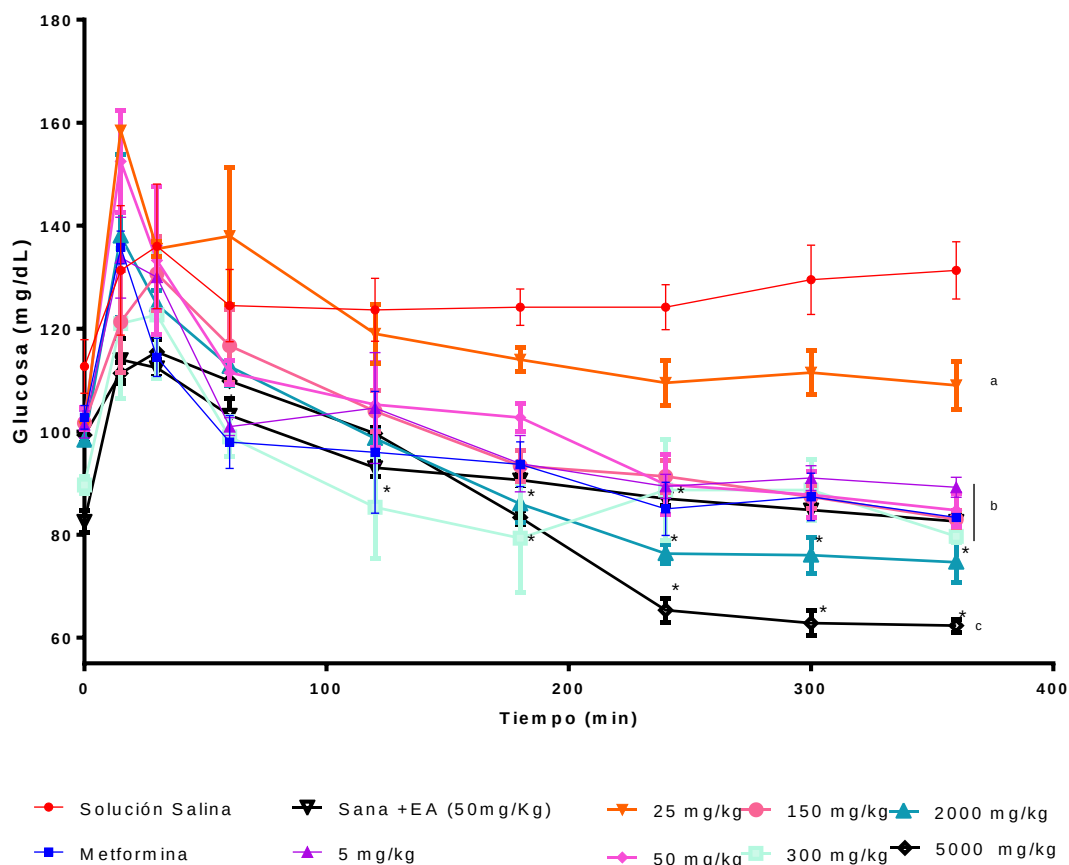


Figura 3. Curva de tolerancia a la glucosa con extracto acuoso de flores de *Spathodea campanulata* en modelo de diabetes tipo 2. Los datos representan la media $\pm$ EE (n=6). Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los grupos y los asteriscos diferencias significativas entre el tiempo cero y el resto de los tiempos dentro de cada grupo ($P \leq 0.05$).

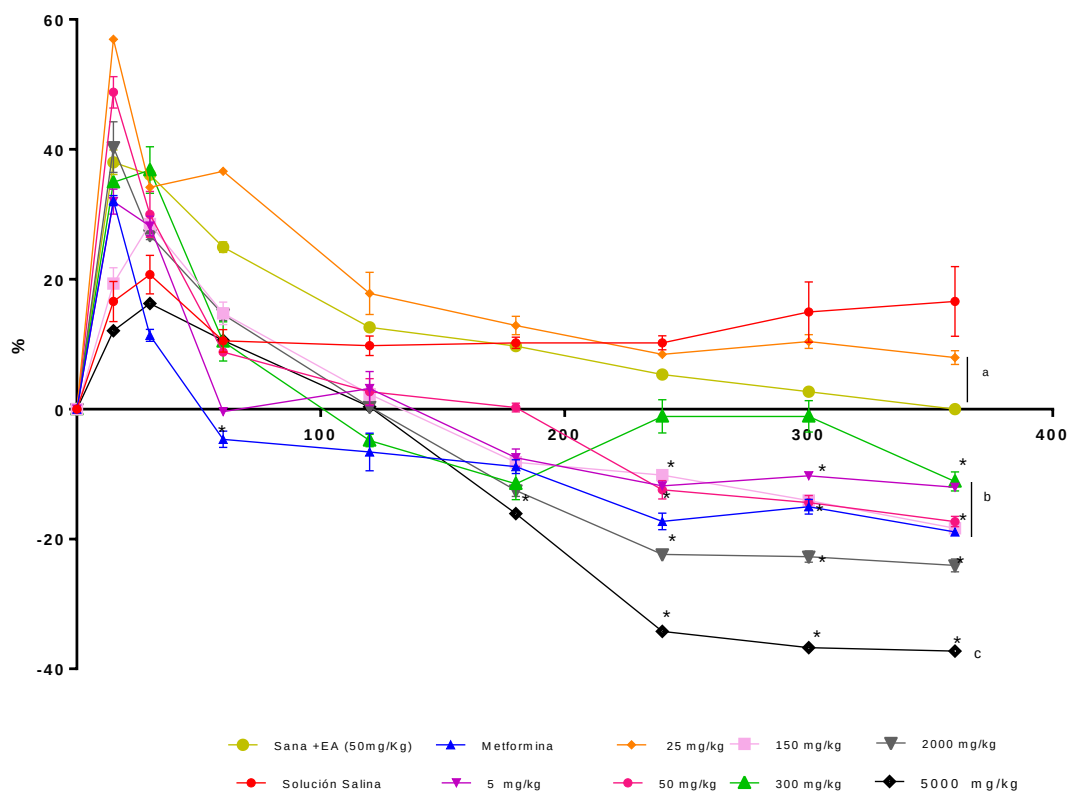


Figura 4. Normalización de datos expresado en porcentaje de reducción de glucosa sanguínea en animales diabéticos administrados con el extracto acuoso de flores de *Spathodea campanulata*. Los datos representan la media $\pm$ DE (n=6). Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los grupos y los asteriscos diferencias significativas entre el tiempo cero y el resto de los tiempos dentro de cada grupo ($P \leq 0.05$).

En la tabla 9 se presentan los resultados de la actividad hipoglucemiante de cada uno de los extractos utilizados con la dosis de 50mg/kg en las curvas de tolerancia a la glucosa, con los cuales se muestra que el extracto de metanol es el que tiene mayor efecto hipoglucemiante, pero en comparación a el control de metformina y el extracto acuoso no existe diferencia significativa. Los extractos de etanol, acetona y hexano tienen un bajo efecto hipoglucemiante y con el extracto de cloroformo no existió un efecto estable.

Tabla 9. Curva de tolerancia a la glucosa con extracto de diferentes solventes de flores de *Spathodea campanulata*

	Reducción (%) [] inicial-final de glucosa en sangre	Reducción (%) En relación a metformina	Área bajo la curva
Solución salina	0	0	100
Metformina 100mg/kg	19.30 ± 4.25 c	100	74.74
Agua	16.83 ± 6.89 c	87.20	72.78
Metanol	21.09 ± 8.54 c	109.27	79.31
Etanol	5.62 ± 3.29 b	29.11	91.24
Acetona	7.23 ± 5.85 a	37.46	83.43
Hexano	10.88 ± 4.50 b	56.37	84.45
Cloroformo	0 b	0	73.18

Las letras minúsculas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) (ensayos n=6).

En la figura 5 se ilustran los resultados de la prueba con los diferentes extractos en una dosis de 50mg/kg, se observa que el grupo control negativo SS no existe un descenso de la glucemia y se mantiene la hiperglucemia hasta el final de la prueba, por el contrario con el extracto de metanol se observa un descenso de la glucemia a partir del minuto 60 sin llegar a ocasionar hipoglicemia, así hasta el final de la prueba, no existiendo una diferencia significativa entre el grupo con el tratamiento de metformina así como con el grupo tratado con extracto acuoso. Los extractos de etanol, acetona y hexano presentaron un mínimo porcentaje de reducción en la concentración sanguínea de glucosa.

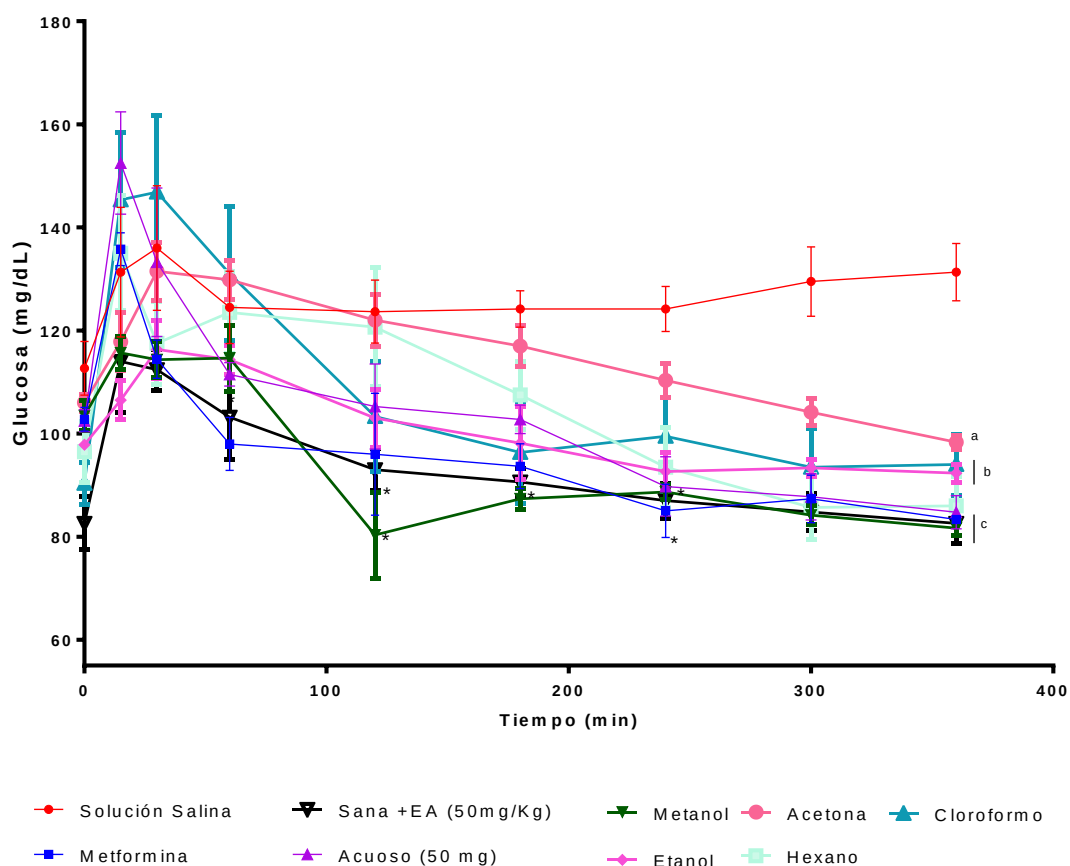


Figura 5. Curva de tolerancia a la glucosa con extracto de flores de *Spathodea campanulata* utilizando diferentes solventes en modelo de diabetes tipo 2. Los datos representan la media $\pm$ EE (n=6). Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los grupos y los asteriscos diferencias significativas entre el tiempo cero y el resto de los tiempos dentro de cada grupo ($P \leq 0.05$).

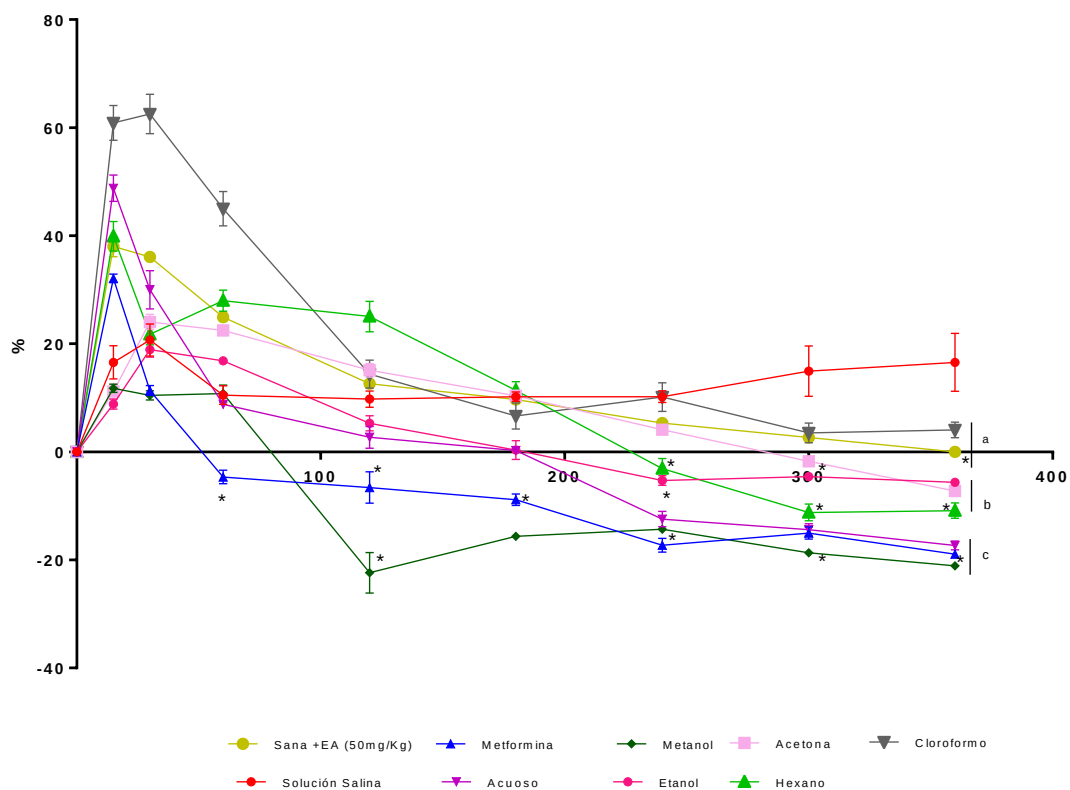


Figura 6. Normalización de datos expresado en porcentaje de reducción de glucosa sanguínea en animales diabéticos administrados con el extracto de flores hojas de *Spathodea campanulata* utilizando diferentes solventes.

Los datos representan la media $\pm$ DE (n=6). Las letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los grupos y los asteriscos diferencias significativas entre el tiempo cero y el resto de los tiempos dentro de cada grupo ($P \leq 0.05$).

8. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se llevaron a cabo cuantificaciones de metabolitos secundarios, los cuales tienen sus funciones en el metabolismo de cada planta, pero se han demostrado que tienen efectos benéficos en la salud, por ejemplo, como antioxidante e hipoglucemiante siendo los de interés en nuestra investigación.

Las concentraciones de compuestos fenólicos varían de acuerdo a su ubicación en la planta, se sintetizan en todas las partes de la planta, tienen un papel importante en el suministro de color y fragancia de frutas, flores y semillas, lo que las hace atractivas para insectos, pájaros o mamíferos, que ayudan en la transmisión de polen. Las plantas liberan varios productos químicos para disuadir y atraer insectos, en algunos casos depredadores naturales de herbívoros que se alimentan de una planta (Mierziak et al., 2014). Los compuestos fenólicos juegan un papel importante en la pigmentación de las flores, en el color de los pétalos son esenciales para atraer polinizadores y por lo tanto mejorar el éxito reproductivo, en los estambres desempeñan un papel en la germinación del polen o el desarrollo del tubo de polen (Dudek et al., 2016), en el pistilo tienen la capacidad de garantizar la germinación exitosa del polen (Amallesh y Gouranga, 2011).

Cabe mencionar, que las concentraciones de metabolitos secundarios serán diferentes en cada planta e incluso en la misma planta, pues están distribuidos de diferentes maneras de acuerdo a la función en cada parte (Alirezalu et al, 2019). Se ha descrito que existe una diferencia en las concentraciones de metabolitos secundarios en las partes de una misma planta, por ejemplo, el contenido total de fenoles en *C. predoheterophylla* es mayor en la hoja (31.50 ± 0.40 mg/g DW plant) en comparación a la flor (12.52 ± 0.38 mg/g DW plant) y en el caso de *C. meyeri* en la flor se encuentra la mayor cantidad de fenoles totales (65.73 ± 2.51 mg/g DW plant) en comparación con la hoja (34.96 ± 0.77 mg/g DW plant) (Alirezalu et al., 2018). En un trabajo previo del equipo de trabajo ya se había descrito la cuantificación de metabolitos secundarios en hojas de *Spathodea campanulata* es por ello que fue importante realizarlo en enflores.

Los ensayos realizados se hicieron en material seco ya que mediante el proceso de secado se elimina la humedad del material fresco y reducir su actividad de agua, lo que inhibe el crecimiento microbiano y minimiza las reacciones bioquímicas de deterioro (Buchaillet et al., 2009). Además, el secado puede modificar la microestructura física de los tejidos vegetales, lo que conduce a mayores rendimientos de extracción, provoca cambios significativos en la microestructura del producto secado final haciéndolo más poroso, lo que significa que los solventes pueden penetrar fácilmente en la muestra y así extraer más fitoquímicos (Saifullah et al., 2019). Debido a lo anterior la gran mayoría de las cuantificaciones que se realizan se hacen en material seco, sin embargo, nosotros decidimos probarlo en material fresco para comprobarlo, comparando el rendimiento de ambos materiales.

Las concentraciones más altas de flavonoides en flor de Galeana se obtuvieron en condiciones secas, en los pétalos se encontró la mayor concentración lo que es semejante a lo reportado en la literatura, pues tienen un papel fundamental en la atracción de los polinizadores y la posterior reproducción de plantas y protección contra rayos UV (Cheung,1996).

En comparación a otras flores de la misma especie de Bignoniaceae. La flor de galeana es la que tiene mayor cantidad de flavonoides (126.85 ± 8.9 mg QRE/ g extracto), por lo cual, podrían ser potencialmente útiles como fuente opcional para obtener estos compuestos naturales y probarlos como tratamientos de apoyo en diversas patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, hepatopatías, cardiopatías, neuropatías (Torres et al. 2015).

Nuestra investigación concuerda con los datos obtenidos por Chunhua Zhou y colaboradores en 2011 en su investigación con la flor *Eriobotrya japonica* mostraron que los pétalos contenían el mayor contenido de flavonoides y compuestos fenólicos (7.45 ± 0.38 y 19.63 ± 2.72 mg / g DW, respectivamente), seguido de estambres y pistilo (1.81 ± 0.07 mg / g DW), pedúnculo 1.19 ± 0.07 y sépalo 1.15 ± 0.14 mg/ g DW) (Zhou et al., 2011).

En cuanto a fenoles, en comparación a otras flores de la misma especie de Bignoniaceae. La flor de galeana es la que tiene mayor cantidad de fenoles, por lo cual, podrían ser potencialmente útiles como fuente opcional para obtener

estos compuestos naturales y probarlos como tratamientos de apoyo en diversas patologías (Torres et al. 2015). Por ejemplo, artritis, cáncer, problemas neurodegenerativos y cardiovasculares (Ambriz et al., 2016).

La cuantificación de metabolitos secundarios resulta de suma importancia, pues con ello, se pueden obtener compuestos que se pueden utilizar como apoyos en tratamientos de diversas enfermedades diabetes mellitus, cáncer, hepatopatías, cardiopatías, neuropatías, además el hecho de estudiar cada parte de la flor es una ventaja para investigaciones futuras ya que con los resultados se sabe en qué parte se encuentra la mayor cantidad de compuestos fenólicos

Nuestro trabajo es la primera aportación utilizando seis diferentes solventes con flor de *Spathodea campanulata*. Se utilizaron seis diferentes solventes, el objetivo del proceso de extracción fue maximizar la cantidad de compuestos objetivo y para obtener la mayor actividad biológica de estos extractos (Truong et al., 2019). Debido a la variedad de compuestos bioactivos contenidos en materiales vegetales y sus diferentes propiedades de solubilidad en diferentes solventes, el solvente óptimo para la extracción depende de la planta en particular materiales y los compuestos que se deben aislar (Mahdi et al., 2012). Los flavonoides como la apigenina, luteína y rutina que poseen un gran número de grupos hidroxilos insustituídos o azúcares son considerados compuestos polares, por lo que son moderadamente solubles en solventes polares como: etanol, metanol, butanol, acetona, DMSO, agua. Por otro lado, las agliconas menos polares como isoflavonas y flavanonas tienden a ser más solubles en solventes tales como éteres y cloroformo. El extracto de hexano generalmente contiene clorofilas y, cuando están presentes, agliconas de flavonoides altamente metoxiladas como quercetina 3,7, 3', 4' tetrametil éter y 6-metoxiquercetina 3,7, 3', 4' tetrametil éter, y los extractos de cloroformo y acetato de etilo son ricos en flavonoides. El extracto de hexano a diferencia del resto presentó mayor cantidad de flavonoides por lo cual se deduce que la flor presenta una mayor cantidad de flavonoides no polares. Respecto a fenoles la mayor concentración se obtuvo en pistilo y brácteas utilizando metanol como solvente (Cartaya et al., 2001; Orsat et al., 2017).

Lo descrito anteriormente nos da indicios de que componentes tenemos en cada extracto y así mismo el posible efecto benéfico que puede tener contra diversas

patologías como antioxidantes, antiinflamatorios, antialérgico, anticancerígeno, antihipertensivo, cardio protector, actividades microbianas, entre otras.

Capacidad Antioxidante

Se llevó a cabo la evaluación de la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos con diferentes solventes, (agua, metanol, etanol, acetona, hexano y cloroformo). Sánchez – Moreno establece en 1998 una clasificación según la eficiencia anti radical con la siguiente clasificación: Baja Media, Alta y Muy alta (Sánchez-Moreno, 1998).

Como se aprecia en la tabla 7, el extracto acuoso posee una EA muy alta, mientras que con metanol y acetona se obtuvo una EA alta, con etanol una eficiencia media y con hexano y cloroformo no se logró llevar a cabo la medición, por la polaridad de los solventes intervino con el reactivo DPPH. Mediante una cinética se evaluó el comportamiento con porcentaje de inhibición del DPPH, así como el tiempo, donde agua, acetona, son diferentes a ácido ascórbico.

Con las hojas del mismo árbol de *Spathodea campanulata* el extracto acuoso tiene una EA alta (7.84×10^{-3}) (Escamilla et al., 2019). Mientras que, al compararlo, el extracto acuoso de flor tiene una EA muy alta. Es de suma importancia conocer la eficiencia antriradical ya que no solamente estos extractos serán funcionales en la diabetes mellitus, si no en todas las enfermedades crónicas degenerativas.

Es de suma importancia el saber qué capacidad antioxidante *in vitro* tiene cada uno de los extractos, pues el poder reductor es otro mecanismo protector del estrés oxidativo, que revela la capacidad donadora de electrones de los extractos naturales y la homeostasis redox celular (Kiani et al., 2021), recordando que el estrés oxidativo aumenta considerablemente en las personas que tienen diabetes mellitus 2.

Capacidad hipoglucemiante

La cantidad de fenoles, polifenoles y flavonoides en la planta se sabe que está relacionado con un efecto en el control de la glucemia, ya que estos metabolitos secundarios favorecen a lograr la homeostasis de la glucemia haciendo efecto en diferentes órganos diana, en el intestino al inhibir la acción de alfa amilasa y beta glucosidasa, generando secreción de insulina o mejorando la captación de glucosa en órganos periféricos (Hanhineva et al., 2010, Kim et al., 2016). Al tener los resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos se procedió a iniciar la evaluación del efecto hipoglucemiante agudo de los distintos extractos usando solventes de diferente polaridad obtenidos de las flores de *Spathodea campanulata*. Para realizar la inducción de diabetes mellitus tipo 2 en ratas con administración *ad libitum* de fructosa al 60% posteriormente a las 4 semanas y con un nivel de glucosa sanguínea mayor a 100mg/dl se considera como establecido el modelo (Dupas et al., 2016).

Los ensayos de curvas de tolerancia a la glucosa permitieron comprobar el efecto hipoglucemiante de distintas dosis del extracto acuoso de flores de *Spathodea campanulata*. Los animales diabéticos del grupo con tratamiento de solución salina al 0.9% no muestran alguna reducción en los niveles de glucosa, tras la administración de glucosa vía oral no desciende la concentración a lo largo de la prueba, a comparación de los animales diabéticos tratados con metformina 100 mg/kg que normalizaron sus niveles de glucosa en sangre a los 120 minutos con una reducción del 19.30% al final de la prueba, por su parte se probaron 7 dosis del extracto acuoso de flor de *Spathodea campanulata* de las cuales la dosis de 50mg/kg presentó el mejor control de glucemia en ratas con diabetes tipo 2 (Figura 4). Las dosis de 2000 y 5000mg/kg provocaron hipoglucemia en el modelo, así como diarrea. Se analizaron las 7 dosis de acuerdo con la OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity 2001.

La metformina es un medicamento que actúa por diversos mecanismos: retrasa la absorción intestinal de glucosa, reduce la producción hepática de glucosa y en el músculo incrementa la sensibilidad a la hormona insulina para así, mejorar la captación de glucosa periférica, de acuerdo a los resultados del ensayo se

observa que en cuanto al porcentaje de reducción de glucosa es similar la metformina al EAQFSC, sin embargo actúa más rápido, por lo cual sugiere que los mecanismos de control de glucemia pudiera ser igual. Diversas investigaciones comprueban la capacidad de los metabolitos secundarios para inhibir enzimas digestivas como la alfa amilasa y alfa glucosidasa, haciendo interacciones con las enzimas gracias a los grupos hidroxilo en su estructura pudiendo crear puentes de hidrogeno con el grupo polar de la enzima, inhibiendo su función, de esta manera se logra reducir la liberación de glucosa, su absorción en el intestino delgado y en consecuencia reduce la hiperglucemia crónica, tal mecanismo podría ser por el cual los metabolitos de *Spathodea campanulata* ejercen su efecto. Además, estos metabolitos pueden reducir la actividad de glucosa-6-fosfatada en hepatocitos, por lo tanto, control de la glucemia a nivel de musculo esquelético favoreciendo translocación de GLUT-4 y mediante mecanismos asociados a activación de vías de proteínas cinasas activadas por (MAPK) mejorando la captación de Ca^{2+} en las células beta del páncreas, generando la liberación de insulina (Hanhineva et al., 2010, Andrade- Cetto, A., 2012, Xiao and Hogger 2014).

En el grupo de animales sanos se observó un buen control de los niveles de glucosa en sangre posterior a la administración oral de la carga de glucosa y las dosis probadas, no existe un aumento en las concentraciones de glucosa, se observó un descenso en la glucemia con la dosis de 5000mg/kg del 9.81% pero se mantuvieron en valores normales, comprobando que el extracto no activa la glucogenolisis hepática, además que no se presentó ningún comportamiento referente a toxicidad.

Una vez obtenida la dosis optima se procedió a evaluar la capacidad hipoglucemiante de los diferentes extractos con distintos solventes, el extracto de metanol tuvo mayor efecto hipoglucemiante con un 109.70% en comparación a metformina, normalizando los valores en 60 minutos y manteniendo normales los niveles de glucemia hasta el final del ensayo, con el extracto de hexano se obtuvo una disminución lenta y del 10.88% , con el extracto de cloroformo se vio un aumento continuo en la glucemia hasta el minuto 120 después teniendo una descenso pero sin presentarse una reducción inicial-final.

Gracias a las cuantificaciones de compuestos fenólicos realizadas en este trabajo podemos darnos una idea de las moléculas que están presentes en cada uno de los extractos, por ejemplo los flavonoides polares que podrían estar en agua, metanol o etanol como la rutina se tiene documentado que ejerce una disminución de la absorción de carbohidratos del intestino delgado, inhibición de la gluconeogénesis tisular, aumento de la captación tisular de glucosa, estimulación de la secreción de insulina de las células beta y protección del islote de Langerhans contra la degeneración. La rutina también disminuye la formación de sorbitol, especies reactivas de oxígeno, precursores de productos finales de glicación avanzada y citocinas inflamatorias. Por su parte la apigenina previene la difusión fuera de las membranas celulares, ya que el aumento del nivel de sorbitol en la diabetes causa muchos problemas como cataratas, retinopatía y neuropatía, de igual manera promueven la liberación de insulina e inactivan a la enzima alfa glucosidasa. (Ghorbani et al., 2017; Ragab et al., 2020)

En cuanto a los flavonoides no polares que se pudieran encontrar en los extractos con solventes como acetona, hexano y cloroformo como la hesperidina, una dosis de 10 g / kg de dieta de tratamiento disminuye los niveles de glucosa en sangre alterando las actividades de las enzimas que regulan la glucosa, en ratones diabéticos tipo 2, la naringina podría regular al alza GLUT4, y regula la expresión de las enzimas hepáticas implicadas en la gluconeogénesis y la glucólisis que mejora la hiperglucemia (Al-Ishaq et al., 2019).

Realizando una comparación entre los extractos utilizados y teniendo en cuenta los resultados obtenidos de las cuantificaciones de metabolitos secundarios, así como de la capacidad antioxidante, el extracto con mayor capacidad hipoglucemiante y mayor eficiencia anti radical el extracto acuoso de flor de *Spathodea campanulata* en una dosis de 50mg/kg. De igual manera en relación con lo obtenido por Escamilla en 2019 del equipo de trabajo del laboratorio con el extracto acuoso de hojas de *Spathodea campanulata* la dosis optima fue de 300mg/kg, por lo cual tiene mayor rendimiento el extracto utilizado en este trabajo.

En México se ha reportado un consumo promedio de polifenoles totales de 684 mg/día, Aun no existen recomendaciones específicas para el consumo de polifenoles, pero la evidencia científica señala que el consumo de alimentos con alto contenido de polifenoles puede representar una estrategia que en conjunto con una alimentación saludable y un nivel de actividad física adecuado, pudiera ayudar a contrarrestar la carga que representa la presencia de enfermedades cardio-metabólicas en la población (Castro, 2019).

8. CONCLUSION

Los extractos de flor de *Spathodea campanulata* ejercen un efecto hipoglucemiante en ratas con diabetes tipo 2, se comprueba su capacidad antioxidante *in vitro*, siendo el extracto acuoso y metanolico con mayor efecto en la reducción de la glucemia y efecto antioxidante, se relacionan con la concentración media de compuestos secundarios.

9. PERSPECTIVAS

- Evaluar la capacidad hipoglucemiante del extracto de flor de *Spathodea campanulata* en administración crónica.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vivo* del extracto de flor de *Spathodea campanulata* en administración crónica.
- Identificar los mecanismos de acción hipoglucemiante de flor de *Spathodea campanulata*.
- Identificar a los metabolitos secundarios responsables del efecto hipoglucemiante.

10. REFERENCIAS

1. Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1).
2. Alirezalu, A., Salehi, P., Ahmadi, N., Sonboli, A., Aceto, S., Hatami Maleki, H., & Ayyari, M. (2018). Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus* spp.) from different regions of Iran. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 452–470.
3. Al-Ishaq, R. K., Abotaleb, M., Kubatka, P., Kajo, K., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids and Their Anti-Diabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels. *Biomolecules*, 9(9), 430.
4. Allehdan, Sabika & Basha, Asma & Tayyem, Reema. (2020). Gestational Diabetes Mellitus Management: Diet and Lifestyle. *Nutrition & Food Science*. ahead-of-print.
5. Alirezalu, Kazem & Pateiro, Mirian & Yaghoubi, Milad & Alirezalu, Abolfazl & Peighambardoust, Seyed Hadi & Lorenzo, Jose M. (2020). Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*.
6. Acosta Altamirano, G., Frías de León, M., Reyes-Montes, M., Vargas Hernández, V., & Suárez Cuenca, J. A. (2011). Radicales libres y mecanismos de daño tisular en la diabetes mellitus. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 54(3), 46-53.
7. Andrade-Cetto, A., (2012). Effects of medicinal plant extracts on gluconeogenesis. *Botanics: Targets and Therapy*. 2:1-6.
8. Amalesh, D. Gouranga, "Roles of flavonoids in Plants", *Int J Pharm Sci Tech*, 2011, Vol. 6, pp. 12–22. S.
9. American Diabetes Association. (2009). Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 32, 13–61

10. Aronson, D., & Rayfield, E. J. (2002). How hyperglycemia promotes atherosclerosis: Molecular mechanisms. *Cardiovascular Diabetology*, 1, 1–10.
11. Bandeira, S. D. M., S da Fonseca, J. L., Guedes, G., Rabelo, L. A., Goulart, M., & Vasconcelos, S. M. (2013). Oxidative Stress as an Underlying Contributor in the Development of Chronic Complications in Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 3265–3284.
12. Bramanage, S. R., Pavithra, D. D., & Dinithi, C. P. (2015). Hypoglycemic and hypolipidemic activities of aqueous extract of flowers from *Nycantus arbor-tristis* L. in male mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 1–9.
13. Buchailot, A., Caffin, N., & Bhandari, B. (2009). Drying of Lemon Myrtle (*Backhousia citriodora*) Leaves: Retention of Volatiles and Color. *Drying Technology*, 27(3), 445–450.
14. Bhuyan, Deep Jyoti & Basu, Amrita. (2017). Phenolic compounds: Potential Health Benefits and Toxicity.
15. Calderón-Salinas, J.V., Muñoz- Reyes, E.G., Quintanar-Escorza, M. A. (2013). Estres oxidativo y diabetes mellitus. *Revista Educacion En Bioquimica*, 32(2), 53–66.
16. Carrera Boada, C. A., & Martínez-Moreno, J. M. (2013). Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit". *Nutrición Hospitalaria*, 28(Supl. 2), 78-87
17. Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Reseña bibliográfica flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22, 7.
18. Castro- Acosta, M. L. (2019). Polifenoles: compuestos bioactivos con efectos benéficos en la prevención de diabetes tipo 2. *Rev digital RED CieN.* 1 (3), 14-17
19. Chahdoura, H., Adouni, K., Khli, A., Dridi, I., Haouas, Z., Neffati, F., Mosbah, H. (2017). Hepatoprotective effect of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers against diabetes type II induced in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 79–87.
20. Chen, S. L., Yu, H., Luo, H. M., Wu, Q., Li, C. F., & Steinmetz, A. (2016). Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chinese medicine*, 11, 37.

21. Cheung A. Y., "Pollen—pistil interactions during pollen-tube growth", *Trends in Plant Science*, 1996, Vol.1, pp. 46
22. STEPHEN S.M. CHUNG, ERIC C.M. HO, * KAREN S.L. LAM And SOOKJA K. CHUNG (2008) Contribution of Polyol Pathway to Diabetes-Induced Oxidative Stress, *J Am Soc Nephrol* 14: S233–S236
23. Del Castillo Arreola, A., Vargas Baños, S. X., Ramírez Rosales, M., López Moreno, F., & Guzmán Saldaña, R. (2017). Diabetes Tipo 2: Epidemiología, criterios diagnósticos y tratamiento. *Educación Y Salud Boletín Científico Instituto De Ciencias De La Salud Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo*, 5(10).
24. Del Valle J. C., et al. "On flavonoid accumulation in different plant parts: variation patterns among individuals and populations in the shore campion (*Silene littorea*). *Frontiers in Plant Science*, 2015, Vol.7, pp. 1–13.
25. Delgado-Vargas F, Jiménez AR, Paredes-López O. 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains - Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3):173–289.
26. Díaz-Flores, Margarita, Baiza-Gutman, Luis Arturo, Ibáñez-Hernández, Miguel Ángel, Pascoe-Lira, Dalila, Guzmán-Greenfel, Alberto M, & Kumate-Rodríguez, Jesús. (2004). Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gaceta médica de México*, 140(4), 437-447.
27. Dornas, W. C., Lima, W. G. De, Pedrosa, M. L., & Silva, M. E. (2015). Health Implications of High-Fructose Intake. *Advanced Nutrition*, 6, 729–737.
28. Dupas, J., Goanvec, C., Feray, A., & Guernec, A. (2016). Progressive Induction of Type 2 Diabetes: Effects of a Reality – Like Fructose Enriched Diet in Young Wistar Rats. *PLOS ONE*, 1–13.
29. Dudek B., et al., "The Occurrence of Flavonoids and Related Compounds in Flower Sections of *Papaver nudicaule*", *Plants*, 2016, Vol. 5, pp, 1-8.
30. Ebrahimzadeh MA., Nabavi SM., Nabavi SF., Bahramian F., Bekhradnia AR. 2010. Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. Var. *angustifolius*, *V. odorata*, *B. hyrcana* and *C. speciosum*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 23(1): 29-34.
31. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición ,2018

32. Esquivel-Gutiérrez, E. R., Noriega-Cisneros, R., Bello-González, M. A., Saavedra-Molina, A., & Salgado-Garciglia, R. (2012). Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas*, 14(1), 45–52.
33. Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A., & Grodsky, G. M. (2002). Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*, 23(5), 599–622.
34. Federación Internacional de Diabetes, 2020
35. Federación Mexicana de Diabetes, 2019
36. Fitzgerald M, Heinrich M, Booker A. Medicinal Plant Analysis: A Historical and Regional Discussion of Emergent Complex Techniques. *Front Pharmacol*. 2020 Jan 9; 10:1480.
37. Forbes, J. M., & Cooper, M. E. (2013). Mechanisms of diabetic complications. *Physiological Reviews*, 93(1), 137–188.
38. Francis, J. K. (1990). Bignoniaceae Tulipán africano Familia de las bignonias. 484–487.
39. Frank RN. (2004). Diabetic retinopathy. *New England Journal of Medicine*. 350:48-58.
40. Giacco, F., & Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Journal of American Heart Association*, 107(9), 1058–1070.
41. Gil-Velazquez, L. E., Sil-Acosta, M. J., Torres Arreola, L. del P., & Medina Chavez, J. H. (2013). Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 51, 5–7.
42. Glamočlija U, Jevrić-Čaušević A. (2010). Genetic polymorphisms in diabetes: influence on therapy with oral antidiabetics. *Acta Pharm* 2010; 60(4): 387-406.
43. Goh, S. Y., & Cooper, M. E. (2008). The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(4), 1143–1152.
44. Ghorbani A. (2017). Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine & pharmacotherapy. Biomedecine & pharmacotherapie*, 96, 305–312.

45. Gloyn AL, Siddiqui J, Ellard S, Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat* 2006; 27(3): 220-31.
46. Green, K., Brand, M. D., & Murphy, M. P. (2003). Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *DIABETES*, 53, 1–9.
47. Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365–1402.
48. Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T. (2009). Design and screening strategies for alpha-glucosidase inhibitors based on enzymological information. *Curr Top Med Chem*; 9(1): 3-12.
49. Ikeda T, Iwata K, Murakami H. Inhibitory effect of metformin on intestinal glucose absorption in the perfused rat intestine. *Biochem Pharmacol* 2000; 59(7): 887-90
50. Kaneto, H., Katakami, N., Matsuhisa, M., & Matsuoka, T. A. (2010). Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*, 2010.
51. Kiani R, Arzani A and Mirmohammady Maibody SAM (2021) Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Activity Involved in Salt Tolerance in Wheat, *Aegilops cylindrica* and Their Amphidiploids. *Front. Plant Sci.* 12:646221.
52. Lopez Luengo, M. (2006) Plantas medicinales con actividad hipoglucemiante, *Offarm.* 25 (5): 82-88
53. Kim, Y., Keogh, B.J. and Clifton M. P. 2016. Polyphenols and Glycemic Control, *Nutrients*. 8 (1): 17.
54. Makinde, J. M., Amusan, O. O. G., & Adesogan, E. K. (1988). The antimalarial activity of *Spathodea campanulata* stem bark extract on *Plasmodium berghei* in mice. *Planta Medica*, 54(2), 122–125.
55. Martínez-Flórez, S., González-gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271–278.
56. Mazzone T, Meyer PM, Feinstein SB, Davidson MH, Kondos GT, D'Agostino RB Sr, et al. Effect of pioglitazone compared with glimepiride on carotid

- intima-media thickness in type 2 diabetes: a randomized trial. *JAMA* 2006; 296(21): 2572-81. 23.
57. Meetoo, Danny & Wong, Louise & Alsomali, Sabah. (2016). Pharmacological options for managing type 2 diabetes. *Nurse Prescribing*. 14. 330-338.
 58. Mierziak J., et al. " Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment" . *Molecules*, 2014, Vol.19, pp. 16241.
 59. Morran, M. P., Vonberg, A., Khadra, A., & Pietropaolo, M. (2015). Immunogenetics of type 1 diabetes mellitus. *Molecular aspects of medicine*, 42, 42–60.
 60. Niyonzima, G., Requeman, G., Witvrouw, M., Van Poel, B., Pieters, L., Paper, D., Vlietinck, A. J. (1999). Hypoglycemic, anticomplement and anti-HIV activities of *Spathodea campanulata* stem bark. *Phytomedicine*, 6(1), 45–49.
 61. Nowotny, K., Jung, T., Höhn, A., Weber, D., & Grune, T. (2015). Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomolecules*, 5, 194–222.
 62. OECD. (2001) Guidelines for the Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure.
 63. Ohiagu, Franklyn & Chikezie, Paul & Chikezie, Chinwendu. (2021). Pathophysiology of diabetes mellitus complications: Metabolic events and control. *Biomedical Research and Therapy*. 8. 4243-4257.
 64. Ovaskainen, M.-L., Törrönen, R., Koponen, J. M., Sinkko, H., Hellström, J., Reinivuo, H., & Mattila, P. (2008). Dietary Intake and Major Food Sources of Polyphenols in Finnish Adults. *The Journal of Nutrition*, 138(3), 562–566.
 65. Organización Mundial de la Salud, 2020.
 66. Orozco-Montes, Francisco Manuel & Vazquez Hernandez, A & Fenton-Navarro, Bertha. (2019). Active compounds of medicinal plants, mechanism for antioxidant and beneficial effects. *Phyton*. 88. 1-10.
 67. Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. (2012). Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(5), 411–420.

68. Perez Jiemenez, J. (2007). Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes. Efecto de Fibra Antioxidante de Uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos.
69. Quintanar Escorza, M. A., & Calderon Salinas, J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Reb*, 28(3), 89–101.
70. Barky, A. (2020). The Potential Role of apigenin in Diabetes Mellitus.
71. Rajagopal, K., Sasikala, K., Ragavan, B., Rajagopal, K., Sasikala, K., & Ragavan, B. (2008). Hypoglycemic and Antihyperglycemic Activity of *Nymphaea stellata* Flowers in Normal and Alloxan Diabetic Rats Hypoglycemic and Antihyperglycemic Activity of *Nymphaea stellata* Flowers in Normal and Alloxan Diabetic Rats. *Pharmaceutical Biology*, 46, 654–659.
72. Ramos-Ibarra, M. L., Batista-González, C. M., Gómez Meda, B. C., & Zamora Pérez, A. L. (2006). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación En Salud*, VIII (1), 7–15.
73. Ramamoorthy P.K., Bono. 2007. A. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Content of *Morinda Citrifolia* Fruit Extracts from Various Extraction Processes. *Journal of Engineering Science and Technology*. 2(1): 70 - 80
74. Rana, A., Bhangalia, S., & Singh, H. P. (2013). A new phenylethanoid glucoside from *Jacaranda mimosifolia*. *Natural Product Research*, 27, 37–41.
75. Rodríguez Rivera, N. S., Cuautle Rodríguez, P., & Molina Guarneros, J. A. (2017). Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México. *Rev Hosp Jua Mex*, 84(4), 203–211.
76. Rivero, Argimiro & Betancort, Juani. (2021). Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas evaluation of antioxidant activity of polyphenolic compounds from marine algae.
77. Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. 1997. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76:270-276.
78. Sanzana G., M. G., & Durruty A., P. (2016). OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES MELLITUS. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(2), 160–170.
79. Sattanathan, K., Dhanapal, C. K., Umarani, R., & Manavalan, R. (2011). Beneficial health effects of rutin supplementation in patients with diabetes mellitus. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(8), 227–231.

80. Saifullah, Md & McCullum, Rebecca & McCluskey, Adam & Vuong, Quan. (2019). Effects of different drying methods on extractable phenolic compounds and antioxidant properties from lemon myrtle dried leaves. *Heliyon*. 5.
81. Stumvoll M, Haring HU. Glitazones: clinical effects and molecular mechanisms. *Ann Med* 2002; 34(3): 217-24. 22.
82. Torres C, et al, "Antibacterial Activity of Tinctures from Tree leaves belonging to the Bignoniaceae family and their Synergistic Effect with Antibiotics", *Pharmacognosy Journal*. 2015, Vol. 7, pp. 401
83. Truong, D., Nguyen, D. H., Thuy, N., Ta, A., Bui, A. V., & Do, T. H. (2019). Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents , Antioxidants , and In Vitro Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*.
84. Wagh, Anita & Butle, Santosh. (2018). Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *spathodea campanulata* p. Beauvais (african tulip tree): a review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.
85. Wolff, S. P., & Dean, R. T. (1987). Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of "autoxidative glycosylation" in diabetes. *Biochemical Journal*, 245(1), 243–250.
86. Xiao, J. B. and Hogger, P. (2015) Dietary polyphenols and type 2 diabetes: current insights and future perspectives. *Vurr. Medicina Chem*. 22 (1):23-28
87. Yamagishi, S. ichi. (2011). Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes. *Experimental Gerontology*, 46(4), 217–224.
88. Yattoo, Dr. Mohammad & Saxena, Archana & Gopalakrishnan, Arumugam & Alagawany, Mahmoud & Dhama, Kuldeep. (2017). Promising Antidiabetic Drugs, Medicinal Plants and Herbs: An Update. *International Journal of Pharmacology*.
89. Zárate, A., Islas, S., & Saucedo, R. (2014). Eficacia y efectos adversos de los antidiabéticos orales. *Gac Med Mex*, 150, 5–7.
90. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*; 108(8): 1167-74. 18.

91. Zhou M, Xia L, Wang J. Metformin transport by a newly cloned proton-stimulated organic cation transporter (plasma membrane monoamine transporter) expressed in human intestine. *Drug Metab Dispos* 2007; 35(10): 1956-62.

11. ANEXO

1.



Universidad Nacional
Autónoma de México



HERBARIO NACIONAL DE MÉXICO

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

14 de octubre de 2018.

Dra. Bertha Fenton Navarro
Laboratorio de Glicobiología
División de Estudios de Posgrado
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez"
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
PRESENTE:

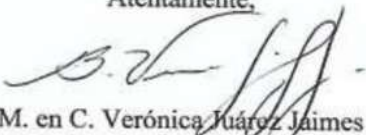
Hago de su conocimiento la verificación taxonómica realizada por la M. en C. Verónica Juárez Jaimes, del material recolectado por Bertha Fenton "Galeana", en Calzada Ventura Puente #27 Col. Cuauhtémoc en Morelia, Michoacán, el 30 de julio del año en curso; así mismo le estoy proporcionando el número de folio asignado al ejemplar en el Herbario Nacional MEXU.

"Galeana": familia Bignoniaceae, especie *Spathodea campanulata* P. Beauv., con el número de folio en MEXU 1489469.

Cabe señalar que la verificación es válida solamente para el ejemplar referido, solicitud OD11092018.

Sin más por el momento le envío un cordial saludo.

Atentamente,



M. en C. Verónica Juárez Jaimes
Programa de determinación