

**BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**



**Facultad de Ciencias Químicas
Departamento de química General**



**Evaluación Fitoquímica, Fisicoquímica e
Hipoglucemiante del Extracto de Momórdica
charantia (cundeamor, balsamina o melón
amargo)**

Tesis para obtener el título de:

Químico farmacobiólogo

PRESENTA

pQFB. María Alejandra Castellanos Campos

Director de tesis: Marco Antonio González Coronel

ASESORES

Dr. Alfonso Daniel Díaz Fonseca

Dr. José albino Moreno Rodríguez

Puebla, Puebla.

Agosto 2015

AGRADECIMIENTOS

Al culminar esta gran etapa de mi vida lleno de mucho esfuerzo, dedicación, desvelos, dificultades, como lo es el desarrollo de una tesis.

Agradezco a Dios por haberme dado la fuerza necesaria y fe para creer en lo que en algunos momentos me parecía imposible terminar, por mantenerme de pie en los momentos más difíciles de mi carrera, por haberme dado unos excelentes padres que siempre me han apoyado y por haberme permitido llegar a este momento de culminación de una etapa importante en mi vida.

A mi director de tesis el M.C Marco Antonio Gonzales Coronel por haberme abiertos las puertas en el departamento para trabajar con la tesis, por su confianza, paciencia, por su apoyo constante y dirección de este trabajo de mucha importancia para mí.

A mis asesores los doctores Alfonso Daniel Díaz Fonseca y José Albino Moreno Rodríguez, por siempre estar dispuestos a ayudarme y estar pendiente en cada etapa del desarrollo de mi tesis, por su apoyo al resolver cada una de las dudas que se me suscitaron durante este proceso, por sus comentarios y sus afirmadas correcciones en el proceso de elaboración de la tesis.

Al M.C Genaro Carmona Gutiérrez, a la M.C Alejandra Castro Lino y a la M.C Patricia Mestiza Rojas por su apoyo, ayuda, disponibilidad y sugerencias exactas para mejorar el trabajo, por su orientación para realizar de manera correcta mi presentación de tesis.

Ellos suponen los cimientos de mi desarrollo –mi familia- en especial mis –padres- José Alejandro Castellanos Amalfi y Lilia Verónica Campos Gracia que han destinado tiempo para enseñarme nuevas cosas, me han brindado aportes invaluable que me servirán para toda la vida, han sido un pilar fundamental en la culminación de esta etapa, a estos seres tan queridos por mi les agradezco por su amor, paciencia, compañía, apoyo incondicional en mi desarrollo tanto académico como espiritual.

A mis hermanos Johaneth Castellanos Campos y Liliana Castellanos Campos porque sin su apoyo estos cinco años no

habrían sido posibles, ya que me apoyaron con tareas, investigaciones, etc., eso nunca se olvida y se lleva en el corazón, por el amor que siempre me han demostrado, por su paciencia cuando el estrés se apoderaba de mí, gracias también por ser unos excelentes hermanos.

A mi abuelita María Gracia Machucho porque su apoyo y disponibilidad fue fundamental para que pudiera alcanzar esta meta, porque gracias a ella obtuve la parte fundamental de estudio para este trabajo, por siempre preocuparse por mí y darme buenos consejos.

A mis abuelitos que aunque ya no están físicamente conmigo el recuerdo de su amor y sus consejos estimularon mi deseo por seguir adelante.

Mis tíos el Dr. Jacobo Oliveros Oliveros y Dra. Monserrat Morín de Oliveros porque aun sin conocerme me brindaron el calor de su hogar y el cariño que todo estudiante necesita estando lejos de su familia, por su paciencia y apoyo académico en los inicios de mi carrera.

A mis tíos, tías, abuelita paterna y demás familiares que con sus consejos y palabras de ánimo fueron parte importante en este logro de mi vida, por su demostración de cariño aunque no les tuviera cerca, por sus buenos deseos y amor que siempre me han demostrado.

Por último quiero agradecer a mis amigos Iraís, Ángel, Fredy, Edgar los cuales no podían faltar, por su apoyo en estos 5 años, por su compañía constante, por tantas experiencias compartidas y por conservar nuestra amistad desde el primer día que llegamos a la universidad hasta hoy, como olvidar cada momento.

A mi madre Lilia, mi padre José, mis hermanos Johaneth y Liliana.

Índice general

- I. Introducción
- II. Antecedentes
 - 2.1 Sinonimia popular
 - 2.2 Historia
 - 2.3 Etnobotánica y antropología
 - 2.4 Química
 - 2.5 Farmacología
 - 2.6 Toxicidad
 - 2.7 Precauciones
- III. Planteamiento del problema
- IV. Justificación
- V. Hipótesis
- VI. Objetivos
 - 6.1 Objetivo general
 - 6.2 Objetivos particulares
- VII. Parte experimental
 - 7.1 Material de laboratorio
 - 7.2 Reactivos
 - 7.3 Equipos
 - 7.4 Diseños de estudio
 - 7.5 Muestro
 - 7.6 Obtención de los extractos de Momórdica charantia
 - 7.7 Pruebas fitoquímicas
 - 7.7.1 Alcaloides
 - 7.7.2 Taninos
 - 7.7.3 Quinonas
 - 7.7.4 Flavonoides
 - 7.7.5 Lactonas
 - 7.7.6 Terpenos
 - 7.7.7 Esteroides
 - 7.7.8 Vincristina
 - 7.7.9 Vinblastina
 - 7.8 Otras pruebas de identificación
 - 7.8.1 Reacción de Shinoda
 - 7.9 Pruebas farmacológicas

7.9.1 Animales de experimentación

VIII. Técnicas de caracterización

8.1 Cromatografía de columna (CC)

8.2 Cromatografía en capa fina (CCF)

8.3 Método de espectroscopia infrarroja (IR)

8.4 Método de espectroscopia ultravioleta visible (UV)

IX. Discusión de resultados

X. Conclusiones

XI. Bibliografía

XII. Abreviaturas

XIII. Glosario

XIV. Anexos

Anexo 1.

Evaluación Fitoquímica, Físicoquímica e Hipoglucemiante del Extracto de *Momórdica charantia* (Cundeamor, Balsamina o Melón Amargo)

I. INTRODUCCION.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contiene sustancia que pueden ser empleadas para propósito terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos.

Se estima que el 80% de las personas en regiones menos desarrolladas emplean la medicina tradicional con plantas para el cuidado de la salud. Esto está basado en la eficacia que presenten las plantas; es decir se acepta y adopta lo que las personas ven que sirve, lo demás cae en desuso.

De acuerdo a lo anterior se enfocara esta tesis en el estudio del extracto de la planta *Momórdica charantia* ya que dentro de sus tantas propiedades curativas está la de controlar glucosa en sangre, por lo tanto se realizaran estudios que nos permitan comprobar esta propiedad ya antes mencionada, debido a que la diabetes tipo I y II ocupa un índice de mortandad alto en nuestro país.

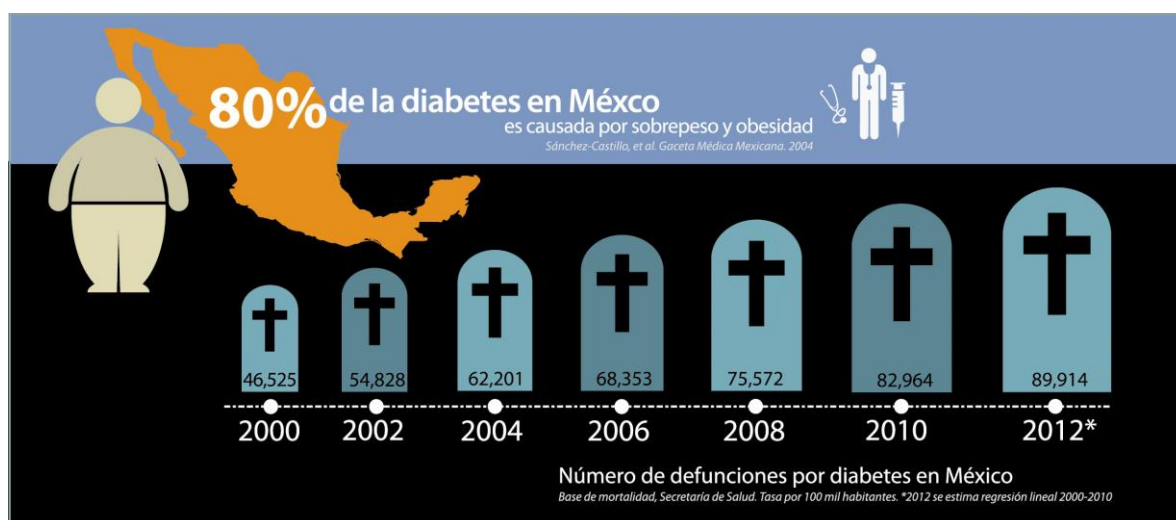


Figura 1. Número de defunciones en México por diabetes

La **diabetes mellitus** (del latín *diabētes*: “lo que va a través” y *mellis*: “miel”), se ha convertido en las últimas décadas en la enfermedad metabólica con más incidencia en la población mundial. La diabetes está caracterizada por un fallo en la regulación fisiológica de la glucosa en sangre, lo que da lugar a una hiperglucemia crónica o persistente.

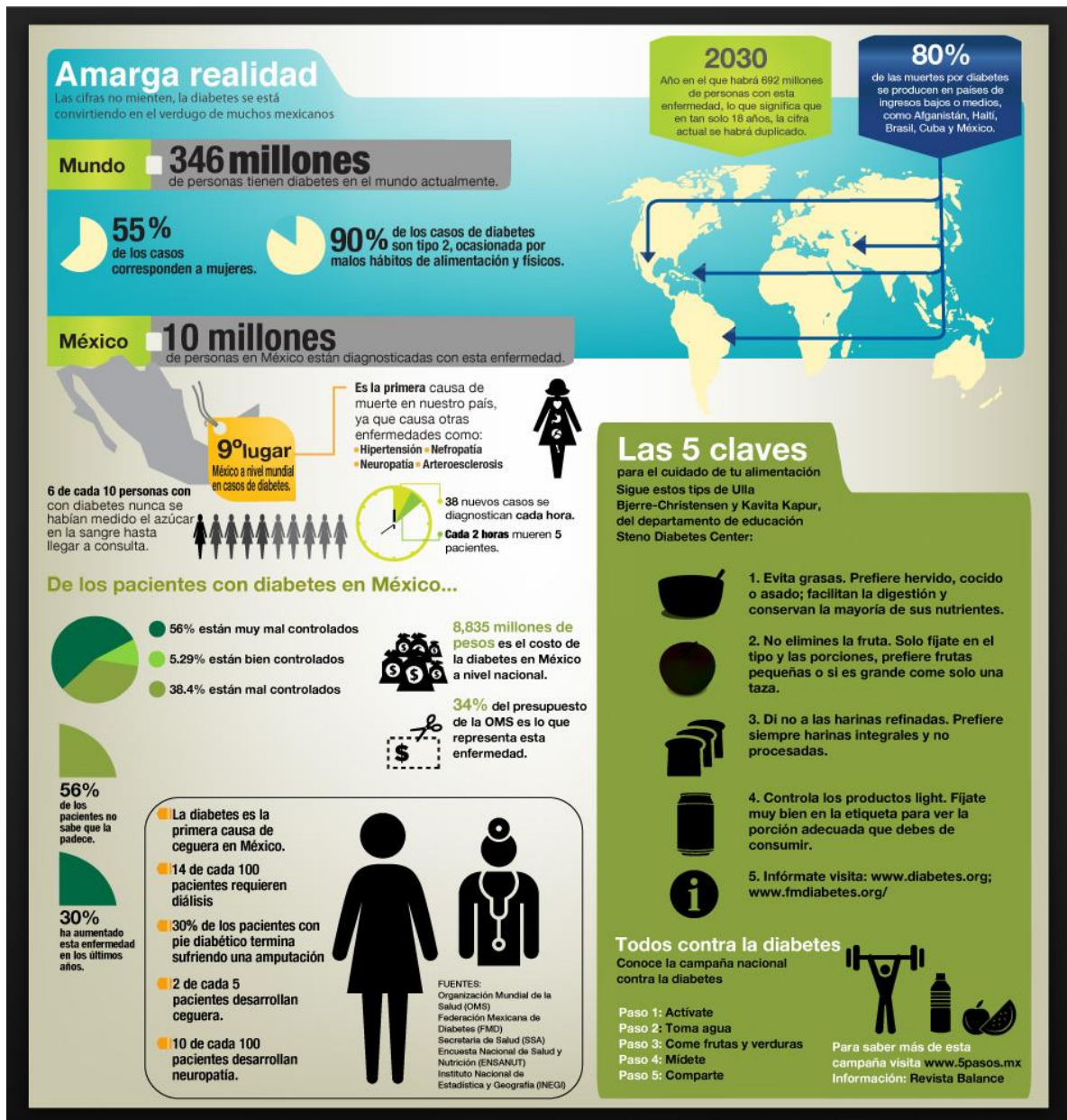


Figura 2. Incidencia de diabetes en México y el mundo.

Los beneficios de *Momórdica charantia* según la Medicina Alternativa: le atribuye variados; con las hojas secas o la raíz pulverizada se prepara una decocción que, se dice alivia las molestias de las hemorroides. El jugo de los frutos se usa como tratamiento en la disentería y colitis crónica mientras que la decocción de las semillas se emplea para las infecciones uretrales.

Se dice también que las semillas son vermífugas (eliminan las lombrices intestinales).⁽¹⁾ Esto último lo confirma el Dr. Lavadores Villanueva⁽²⁾ en su “Estudio de 119 plantas medicinales más conocidas en Yucatán, México” y recomienda el cocimiento de algunas hojas en 160 ml de agua endulzada y tomarlo de dos a tres veces al día. Además, dice, se le considera afrodisíaco.

La medicina alternativa que se practica en Asia, África y Latinoamérica tradicionalmente le reconoce propiedades como hipoglucémico y es de tal modo efectivo se dice que el extracto de la planta se le conoce como “Insulina vegetal”.^(1,3)

La *Momórdica charantia* en general contiene glucósidos (momordina, charantina), alcaloides (momordicina), glucoproteínas (alfa-momorcharina, beta-momorcharina, lectinas), polipéptido-P, un nucleósido pirimidínico (vicina), la proteína MAP 30 y varios ácidos grasos^(1, 6)

En general se ha determinado que contiene moléculas que presentan un comportamiento semejante al de la Insulina.^(3,5)

Desde el punto de vista del efecto Hipoglucémico: Varios estudios clínicos han mostrado que la *Momórdica* tiene efectos hipoglucemiantes en humanos lo cual puede servir como tratamiento para la Diabetes tipo II⁽⁴⁾. Entre estos estudios se ha llegado a concluir que el efecto hipoglucemiante es consistente, teniendo un máximo efecto después de 4 a 12 horas, comparado con el efecto de 2 a 3 horas de la insulina regular.⁽⁷⁾

Desde el punto de vista medicinal, se utilizan las hojas, las raíces y las semillas. Esta planta tiene una larga tradición como planta antidiabética hasta el punto de que su extracto ha sido llamado "insulina vegetal".

Por otro lado, el Melón Amargo tiene una larga historia en el Amazonas por sus propiedades reguladoras del nivel de azúcares en la sangre. Es primordialmente usado en el control de diabéticos no dependientes de insulina.

En estudios científicos, por lo menos tres diferentes grupos de componentes encontrados en todas las partes del Melón Amargo han demostrado propiedades hipoglucémicas más otros beneficios potenciales en contra de la diabetes mellitus. El efecto hipoglucémico es más pronunciado en la fruta del Melón Amargo.

Más de 100 estudios han demostrado el efecto de reducir los niveles de azúcares en la sangre de esta fruta amarga. También han comprobado la habilidad de mejorar la ingestión de glucosa por las células para promover la liberación de insulina y potenciar sus efectos. (www.naturalstandard.com)

En la medicina Ayurvédica, el Melón Amargo es popularmente considerado una “planta insulina”.

II. ANTECEDENTES

La momórdica es una hierba trepadora de tallos delgados y resistentes. Las hojas están divididas en 5 o 7 partes y tienen el margen aserrado. Sus flores son tubulares divididas en cinco lóbulos, son amarillas y pequeñas. Los frutos son carnosos, verdes y al madurar anaranjados, con las semillas envueltas en una pulpa roja.

Originaria de África y Asia tropical. Habita en clima cálido desde el nivel del mar hasta los 350m. Crece a orilla de caminos, sobre bordos o cultivada en huertos familiares, asociada a vegetación perturbada derivada de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio y perennifolio. ⁽⁸⁾ ⁽¹⁰⁾



Figura 3. Hojas de cundeamor



Figura 4. Flor de cundeamor



Figura 5. Fruto de cundeamor

2.1 Sinonimia popular

A la Momórdica se le conoce como: Amor seco, bálsamo, bejuco, cundeamor, chorizo, cochinito, cosquelite, flor de amor, manzanina; Oaxaca: paxandia (mixe); Quintana Roo: kolmol, hl-much (maya); Yucatán: kool mol, xcochinito, xkool mool, yakunaj aak', yaa kurtaj aa/c'(maya).

2.2 Historia.

En el siglo XVI, Francisco Hernández, señala que la Momórdica: "es de naturaleza fría, seca y glutinosa con alguna astringencia. Cura las úlceras y los ojos atacados de inflamación".

A finales del siglo XIX, la Sociedad Mexicana de Historia Natural relata su uso para curar las hemorroides.

En el siglo XX, Maximino Martínez la refiere como afrodisiaco, antiescabiático, antiparasitario, catártico, para curar las llagas y quemaduras. Finalmente, la Sociedad Farmacéutica de México señala los mismos usos proporcionados por Martínez.

Más recientemente, una proteína aislada de las semillas de la Momórdica, la MAP 30 ha mostrado propiedades interesantes como antivírico y antineoplásico.

2.3 Etnobotánica y antropología.

Los principales padecimientos para los cuales se reporta esta planta son afecciones de la piel, destacando las quemaduras en Quintana Roo y Tabasco, aunque también se emplea en granos, salpullido, sarna y heridas. Las hojas tostadas y molidas se aplican sobre la quemadura. La cocción de las ramas y hojas se ocupa para lavar las heridas.

Por otra parte, la flor de cundeamor, junto con otras flores de distintas especies, se cuece para bañar a los niños cuando tienen temperatura (calentura) y dolor de cabeza o bien, sólo se ocupa la decocción de las hojas para dar un baño refrescante. Las hojas de

esta planta, con las de aguacate (*Persea americana*) se combinan para elaborar un té que se bebe como agua de tiempo, durante dos o tres días, para tratar la diabetes. La cocción de las ramas se toma en forma de té para fortificar la sangre o como agua de uso cuando hay retención de orina.

Además, el rizoma se ocupa para preparar un té contra la fiebre intestinal y las hemorroides. Se usa como desparasitante, en especial contra *Áscaris lumbricoides*, aunque no se especifica de qué manera.

También se indica su uso, contra el pasmo de mujer, el dolor de cabeza, la calentura, la gonorrea, los resfriados y para bajar el azúcar en la sangre. Algunos autores refieren las propiedades de anticonceptivo, desinfectante y anticrotático ⁽⁹⁾.

2.4 Química.

En investigaciones se ha detectado que en la fruta los componentes esteroidales charantín, estigmasta-5-ene-beta-25-diol, varios derivados dehidrogenados del estigmasterol esterificados con ácidos grasos y azúcares, y el estigmasterol; los triterpenos momor-dicósidos E", E-I, Ex, F, F, F'-I, F-2, G, H, I, J, K, L; la sapogenina diosgenina y el alcaloide del indol 5-hidroxitriptamina. En el pericarpio del fruto se han identificado carotenoides; los epóxidos de alfa y beta-caroteno, criptoxantina, luteín, mutato-cromo, fitoflueno, rubixantín, zeaxantín y zeinoxantín.

2.5 Farmacología.

Se ha demostrado que los extractos clorofórmico, etéreo, metanólico, acuoso y alcohólicos del fruto poseen actividad antibiótica contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhosa* y *Sarcina lutea*, y contra el hongo *Candida albicans*.

Diversos estudios "in vitro" e "in vivo" indican que esta planta posee actividad antitumoral. El extracto acuoso del fruto inhibió la guanilato ciclase en estudios con tejidos del colon, corazón, riñón, hígado, pulmón, y estómago de rata, en los que se indujo la síntesis de esta

enzima mediante químicos carcinogénicos. Fracciones cromatográficas del fruto presentaron actividad citotóxica en células BHK-21, en linfocitos y linfoblastos humanos de un leucémico y en células beta de melanoma M9, cuando se aplicó el jugo del fruto. Se describe también que extractos del fruto inhibieron la síntesis de DNA en células BHK-21 y en células de "slamatitis vesicular" de origen viral; también inhibieron la metástasis y síntesis de proteína en este último sistema biológico, e inhibieron la producción de guanilato ciclasa en linfocitos humanos. Este mismo efecto fue ejercido por extractos acuosos de las hojas y las semillas en hígado de rata. El extracto etanólico de la semilla inhibió la síntesis de DNA y RNA de células de sarcoma 180 humano. En estudios in vivo, el extracto acuoso de la planta completa, incremento el periodo de vida de la rata con sarcoma 180 "(ASC)" al administrarse por vía intraperitoneal. Un extracto acuoso del fruto administrado por vía intraperitoneal en ratón con leucemia P388, presentó actividad antitumoral, actividad altamente dependiente de la dosis, y un extracto clorofórmico del mismo órgano, actividad antimutagénica en ratón por vía intragástrica y aplicada dos veces.

Otros efectos que se han detectado en esta planta incluyen la acción antiespermatogénica en perro, y la acción depresora del sistema nervioso central en ratón, ejercida por un extracto etanólico del fruto; la actividad antilipolítica sobre adipositos de rata y cuyo, el efecto estimulante del útero de cuyo debido a un extracto etanólico de la raíz, la acción antihelmíntica (*Haemonchus contortis*) de un extracto acuoso de la semilla y la acción analgésica en ratón de un extracto metanólico de la semilla.

En el hombre, extractos acuosos de la planta completa provocaron un marcado incremento en el contenido de hemoglobina y una disminución de glóbulos blancos en pacientes con leucemia linfática, los que tomaron por vía oral una dosis de 15 mL/individuo 3 veces al día durante 62 días.

El extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas ejerció una actividad antibiótica sobre *Staphylococcus aureus* y ausencia de esta actividad sobre *Escherichia coli* y *Cándida albicans*.

El extracto acuoso de las hojas fue inactivo ante estos microorganismos⁽¹³⁾.

2.6 Toxicidad.

El extracto etanólico-acuoso obtenido de las ramas no produjo ningún efecto tóxico en el ratón por vía subcutánea, a la dosis de 10 g/kg. El jugo del fruto, administrado por vía intragástrica en conejos en dosis de 6mL/kg diariamente, produjo la muerte de los animales a los 23 días. Cuando se administró a conejas preñadas, los animales sufrieron de hemorragias uterinas y murieron. Se describe una acción abortiva en ratas preñadas de los extractos acuoso y acetónico de las semilla cuando se administraron por vía intraperitoneal a la dosis de 4 y 8 mg/kg. En la rata, la administración intraperitoneal del jugo del fruto a la dosis de 15 mL/kg, produjo la muerte en 18 horas, y administrando el jugo por vía intragástrica a la dosis de 5ml/kg diariamente, durante 49 días después de la copulación, produjo en la rata macho un efecto de antifertilidad. Este mismo efecto se describe en ratón hembra con el jugo de las hojas.

En el hombre, la decocción del fruto tornado por vía oral a la dosis de 500 mg/individuo no provocó ningún efecto nocivo.

La decocción de las hojas de Momórdica charantia presentó genotoxicidad a bajas concentraciones para la cepa D-30 de *Aspergillus nidulans* ⁽¹⁴⁾.

En animales los principales efectos colaterales observados son la disminución de la fertilidad y hepatotoxicidad. Tratamiento oral crónico con dosis de 6 mL/kg de peso han llegado a provocar la muerte ⁽¹⁵⁾.

Estudios clínicos han demostrado baja toxicidad en todas las partes del Melón Amargo cuando se consume en forma oral.

2.7 Precauciones.

No se deben consumir cantidades excesivas ya que puede causar diarrea y dolor abdominal. No se recomienda para mujeres embarazadas. Las personas que padecen de hipoglucemia no deben usarlo ya que puede agravar esta condición. No se recomienda su uso continuo durante largos periodos ya que aunque raramente ocurre, pudiera afectar el hígado si se usa sin pausa

durante varios años. Lo mejor es utilizarlo durante un mes y luego discontinuar su uso durante un mes y así sucesivamente. Las personas que padezcan de hepatitis o cirrosis deben abstenerse de utilizarlo como medida de precaución ⁽⁹⁾.

III. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

La diabetes mellitus 2 es el tipo más común de diabetes, suele presentarse en adultos pero cada vez es más frecuente en niños y adolescentes. Las personas con diabetes tipo 2 podrían pasar mucho tiempo sin saber de su enfermedad debido a que los síntomas podrían tardar años en aparecer o en reconocerse, tiempo durante el cual el organismo se va deteriorando debido al exceso de glucosa en sangre. A muchas personas se les diagnostica tan sólo cuando las complicaciones diabéticas se hacen patentes, es una enfermedad que hasta el momento no se puede curar y es progresiva ya que afecta a otros órganos del cuerpo (IDF).

Dentro de la familia L. Curcubitaceae se ubica el melón amargo *Momórdica charantia*⁽⁹⁾ se ha utilizado tradicionalmente como remedio para disminuir la glucosa en la sangre en pacientes con Diabetes mellitus. La evidencia preliminar disponible se refiere el uso del melón amargo en el tratamiento del VIH y cáncer. Los extractos y fórmulas pulverizadas de la fruta son las que se utilizan con mayor frecuencia, aunque también se recomiendan tés preparados a partir de sus tallos y hojas.

IV. JUSTIFICACIÓN

El mundo dispone de una variedad de productos naturales que se presentan como fuente de moléculas con un potencial en el tratamiento de múltiples patologías. México es el segundo país en diversidad de especies vegetales que además son utilizadas, en gran parte, en la medicina tradicional permitiendo que su uso sea fácilmente comercializado a bajos costos (Instituto Humboldt, 2007).

Las plantas han sido empleadas desde el inicio de la humanidad en diversos usos. Por esta razón, se han desarrollado un gran número de estudios para conocer las causas de diferentes actividades biológicas mostradas por varias especies de todo el mundo (Célis et al., 2008).

La *Momórdica charantia* dentro de sus tantas propiedades curativas se encuentra el controlar glucosa en sangre y así ayudar a la patología (diabetes) de manera natural; sabemos que en el mercado ya se encuentran productos para el control de este padecimiento, siendo un conjunto de enfermedades que se caracterizan por una insuficiente acción de la insulina endógena, lo que suele provocar hiperglucemia, alteraciones en los lípidos séricos y lesiones vasculares. Se distinguen por lo menos dos enfermedades que parecen tener una naturaleza diferente: la diabetes tipo 1 (DM1) y la diabetes tipo 2 (DM2). Esta última da cuenta de más de 95% de los casos.

En medicina tradicional las plantas constituyen una fuente económica y altamente disponible para el tratamiento de la diabetes, razón por la cual es de interés estudiar esta especie vegetal y confirmar su actividad biológica y de esta manera disponer de una opción terapéutica segura y económica para la comunidad local con dificultades de acceder a los productos farmacéuticos convencionales.

Reuniendo lo anterior, el objetivo del presente trabajo experimental es contribuir a la generación de información Fitoquímica y farmacológica de la especie vegetal *Momórdica charantia*, para lo cual se utilizarán modelos farmacológicos de la actividad hipoglucemiante.

Para esta investigación se pretende demostrar la existencia de metabolitos activos presentes en *Momórdica charantia* y mediante un modelo experimental animal, comprobar la eficacia de la planta contra la diabetes.

V. HIPÓTESIS

El melón amargo/cundeamor (*Momórdica charantia*) está compuesto por metabolitos secundarios que pueden ser utilizados en el tratamiento o prevención de la diabetes.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General.

Realizar el estudio Fitoquímico del extracto de *Momórdica charantia* y demostrar su eficacia en el tratamiento contra la Diabetes tipo 2, apoyándonos en un modelo animal.

6.2 Objetivos Particulares.

1. Obtención de los extractos etanólico y acuoso de la planta.
2. Caracterizar a través de pruebas fitoquímicas los extractos concentrados de la *Momórdica charantia*.
3. Mediante cromatografía de capa fina obtener los metabolitos secundarios presentes en los extractos de etanol y agua de *Momórdica charantia*.

4. Separar el extracto con ayuda de la cromatografía en columna.
5. Caracterizar los diferentes componentes por espectroscopia infrarroja (IR) y ultravioleta-visible (UV-VIS).
6. Evaluar la actividad hipoglucemiante de la infusión de *Momórdica charantia* en modelos animales (ratas).

VII. PARTE EXPERIMENTAL.

El material que se utiliza para el desarrollo de este proyecto de investigación es:

7.1 Material de laboratorio

- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitados
- Parrilla eléctrica
- Columna cromatografica
- Pinzas para tubo de ensayo
- Estuche de disección
- Equipo soxhlet
- Mortero
- Pipetas
- Capilares
- Cánula

7.2 Reactivos.

Los disolventes empleados son:

- Hexano (reactivo ACS, 99% de Sigma-Aldrich)
- Etanol (reactivo ACS, $\geq 99.5\%$ de Sigma-Aldrich)
- Acetato de etilo (reactivo ACS de Sigma-Aldrich)

Para las pruebas Fitoquímica:

- Ácido clorhídrico (34-37%, de Sigma-Aldrich).
- Cloruro de sodio (grado reactivo ACS de Sigma-Aldrich).
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Cloruro férrico (grado reactivo, 97% de Sigma-Aldrich).
- Hidróxido de amonio (grado reactivo ACS, 28.0-30.0% NH_3 de Sigma-Aldrich).
- Magnesio (grado reactivo, 98% de Sigma-Aldrich).
- Piridina (grado reactivo ACS, $\geq 99.0\%$ de Sigma-Aldrich).
- Nitroprusiato de sodio (grado reactivo ACS, $\geq 99\%$ de Sigma-Aldrich).
- Hidróxido de sodio (pellets, 99.99% de Sigma-Aldrich).
- Cloroformo (anhidro, $\geq 99\%$, de Sigma-Aldrich).
- Anhidro acético (grado reactivo ACS, $\geq 98.0\%$ de Sigma-Aldrich).
- Ácido acético (grado reactivo ACS, $\geq 99.7\%$ de Sigma-Aldrich).
- Sulfato férrico amónico (grado reactivo ACS, 99% de Sigma-Aldrich).
- Ácido fosfórico (85% en H_2O , de Sigma-Aldrich).

Para las cromatografías:

- Cloroformo (anhidro, $\geq 99\%$, de Sigma-Aldrich).
- Éter etílico (grado reactivo ACS, anhidro, $\geq 99.0\%$ de Sigma-Aldrich)
- Éter de petróleo (grado reactivo ACS, de Sigma-Aldrich).
- Hexano (95% de Sigma-Aldrich).

- Acetato de etilo (99.8% de Sigma-Aldrich).
- Acetona (grado reactivo de Sigma-Aldrich).
- Metanol (anhidro 99.8% de Sigma-Aldrich).

7.3 Equipos.

Se utilizaron los siguientes equipos de laboratorio para la caracterización y síntesis de las muestras.

- Espectrofotómetro IR
- Espectrofotómetro UV
- Estufa
- Balanza electrónica
- Glucómetro.

7.4 Diseño del estudio.

El estudio de la planta *Momórdica charantia* se diseña a partir de las sugerencias bibliográficas para el estudio de los componentes presentes en las plantas, en este estudio se pretende obtener un extracto de etanol y uno de agua, posteriormente de los estudios fitoquímicos se pretende efectuar el análisis experimental en un modelo biológico a partir de la utilización de ratas las cuales se les administrara un fármaco (aloxano) el cual provocara alta concentración de glucosa en sangre, y se pondrá a prueba nuestro extracto a diferentes intervalos de tiempo y por último se reportaran los resultados obtenidos a partir de la observación de toma de muestra sanguínea.

7.5 Muestro.

La muestra para este estudio serán las hojas de la planta *Momórdica charantia*. Se recolectara la muestra con el debido cuidado, en el Municipio de Santiago Tuxtla Veracruz.

Se realizará la toma de muestra durante el día, de la siguiente forma: se recolectarán aproximadamente 5 metros de planta, esta se dejará secar, una vez la planta seca se pesarán 3.5 g para cada extracto (agua y etanol) posteriormente macerarán hecho esto se podrá iniciar con la obtención de los extractos. Para el análisis farmacológico no será necesario dejar secar las hojas puesto que estas se hervirán y se les administrara por V.O a las ratas.

7.6 Obtención de los extractos de *Momórdica charantia*.

La extracción se llevara a cabo utilizando un equipo soxhlet, la muestra vegetal molida (3.5 g) se colocara junto con un disolvente, en este caso se emplearan 100 mL de etanol, el cual se calienta a una temperatura de 78°C. Obteniendo así en el matraz los compuestos solubles.

Para el análisis farmacológico se pondrá en un vaso de precipitado de 1 L, 100 cm de la planta y se le añadirá 1 L de agua, el contenido se colocara en una parrilla a calentar hasta el punto de ebullición. Posteriormente se dejara enfriar y se recolectara por decantación el líquido obtenido, el cual se podrá refrigerar de 1 día si no se utiliza inmediatamente.

7.7 Pruebas Fitoquímicas.

7.7.1 Alcaloides.

Al extracto obtenido se le añaden 0.5 mL de ácido clorhídrico al 5%, se satura con cloruro de sodio y se filtra, se pasa el líquido claro a otro tubo de ensayo y se añade una gota de reactivo de Mayer. Si se forma un precipitado o turbiedad, se confirma la presencia de alcaloides.

Al extracto obtenido se le añaden 5 gotas de reactivo de Wagner, si se forma un precipitado es indicativo de la presencia de alcaloides. Dando positivo el extracto de *Momórdica*.



Figura 6. Extracto normal



Figura 7. Presencia de precipitado.

7.7.2 Taninos.

Se coloca 1 mL de solución de cloruro férrico al extracto obtenido, si se observa una coloración naranja se confirma la presencia de taninos en la muestra. Se obtuvo la coloración naranja en el extracto de *Momórdica*.



Figura 6. Extracto normal



Figura 8. Prueba positiva a taninos

7.7.3 Quinonas.

Se colocan 3 gotas de hidróxido de amonio al extracto obtenido, si se observa una coloración roja, la prueba es positiva. Esta prueba dio positiva para el extracto de *Momórdica*.



Figura 6. Extracto normal



Figura 9. Prueba positiva a quinonas.

7.7.4 Flavonoides.

A un tubo con 1 mL de extracto se le agrega un trozo pequeño de magnesio y 5 gotas de HCl concentrado. La aparición de colores que van desde el rojo al naranja indican la presencia de un flavonoide. El extracto de *Momórdica* al realizarle esta prueba dio un color naranja intenso lo cual nos indica según la prueba presencia de flavonoides, con esto se optó por realizar la reacción de shinoda para obtener específicamente los tipos de flavonoides presentes en el extracto.



Figura 6. Extracto normal



Figura 10. Prueba positiva a flavonoides.

7.7.5 Lactonas.

A una porción del extracto a analizar se le agregan de 2 a 3 gotas de piridina, posteriormente se añade una gota de solución al 5% de nitroprusiato de sodio en agua y 3 gotas de NaOH al 2N, se considera positiva cuando aparece un color rojo intenso.



Figura 6. Extracto normal



Figura 11. Prueba negativa a lactonas

7.7.6 Terpenos.

Se disuelve en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto obtenido en 1 mL de cloroformo. Se agrega resbalando por las paredes 1 mL de anhídrido acético y se deja reposar, se agregan 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de colores rojos, rosa, verde, púrpura o azul en la interface se considera positivo. En el extracto de *Momórdica* dio positivo.



Figura 6. Extracto normal



Figura 12. Prueba positiva a terpenos

7.7.7 Esteroides

Al extracto obtenido se le agregan de 2 a 3 gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético-ácido sulfúrico (50:1) concentrado, si aparece una coloración verde o azul se considera una prueba positiva. El extracto de *Momórdica* dio positivo para esteroides.



Figura 6. Extracto normal



Figura 13. Prueba positiva a esteroides

7.7.8 Vincristina.

Disolver 10 mg de sulfato férrico amónico en 1 mL de ácido fosfórico (solución reactiva "SR"). Transferir 3 gotas de esta solución a un tubo de ensayo agregar 0.5 mL del extracto obtenido y calienta en baño maría durante 10 minutos. La aparición de un color rosa es positiva. Al presentar el extracto de *Momórdica* una coloración rosa nos indica la presencia de vincristina.



Figura 6. Extracto normal



Figura 14. Prueba positiva a vincristina

7.7.9 Vinblastina.

Se disuelven 10 mg del extracto en 2 mL de agua y se le agrega 1mL de ácido clorhídrico concentrado (~ 70g/L) SR y 1mL de cloruro de bario (50 g/L) SR; si se forma un precipitado blanco prácticamente insoluble en ácido clorhídrico es positivo. El análisis de vinblastina para el extracto de *Momórdica* dio positivo ^(15, 16, 18).



Figura 6. Extracto normal



Figura 15. Prueba positiva a Vinblastina

7.8 Otros métodos de Identificación de flavonoides.

7.8.1 Reacción de Shinoda.

Los flavonoides con el núcleo benzopirona (flavonas, flavonoles, flavononas, etc.) producen coloraciones rojizas cuando a sus disoluciones acuosas o alcohólicas se les adiciona magnesio o zinc seguido del HCl concentrado.

NOTA: Al reemplazar el Mg por el Zn en el procedimiento del ensayo de Shinoda, solamente los Dihidroflavonoles o flavonoles producen coloraciones rojo-violetas, las flavononas y flavonoles no producen color o producen coloraciones rosadas débiles.

Los flavonoides poseen diversas actividades farmacológicas: contra los dilatadores arteriales, antiespasmolítica, antihepatotóxica, estrógena, diurética, antimicrobiana, fungitóxica, antioxidantes, edulcorantes, entre otras. Se generan por la ruta metabólica del shikimato y del acetato malonato, la ruta del shikimato origina los fenilpropanoides los que a través de la ruta del acetato malonato se transforma en flavonoides.

Actualmente se conocen más de 10 núcleos básicos, para los flavonoides estos tienen un sistema $C_6-C_3-C_6$.

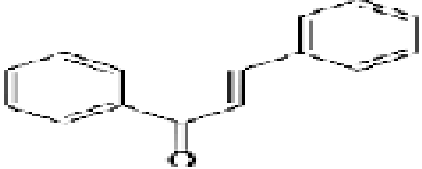
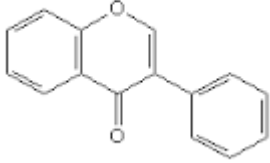
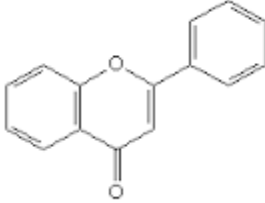
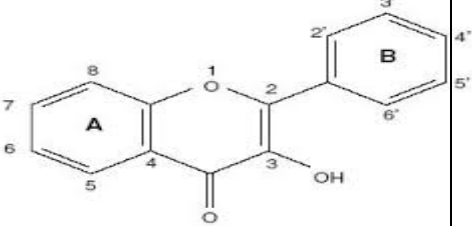
Existen muchas técnicas para la identificación de los flavonoides entre ellas se encuentran las reacciones de coloración y precipitación, espectrofotometría ultravioleta, espectrofotometría infrarroja, espectrofotometría de masas, difracción de rayos X y resonancia magnética nuclear.

Las reacciones de coloración pueden usarse también para evidenciar la presencia de flavonoides, una de las más específicas es la Reacción de Shinoda, de la que resultan coloraciones características según el tipo de núcleo de los flavonoides

Como características generales se observan: la solubilidad en solventes polares, su carácter fenólico y la intensa absorción en la región UV-VIS del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados.

Los flavonoides poseen espectros con intensas absorciones en el espectro ultravioleta (UV), se pueden distinguir 2 bandas principales: de 240 – 285nm y de 300 – 550nm.

Tabla 1. Identificación de Flavonoides.

Tipo de flavonoides	Coloración (reacción de Shinoda)	Estructura química
Chalconas	No hay coloración	
Auronas	No hay coloración	
Isoflavanonas	No hay coloración	
Isoflavonas	Amarillo rojizo	
Flavanonas	Azul magenta, violeta, rojo	
Flavanonoles	Rojo a magenta	
Flavonas	Amarillo a rojo	
Flavonoles	Amarillo a rojo	

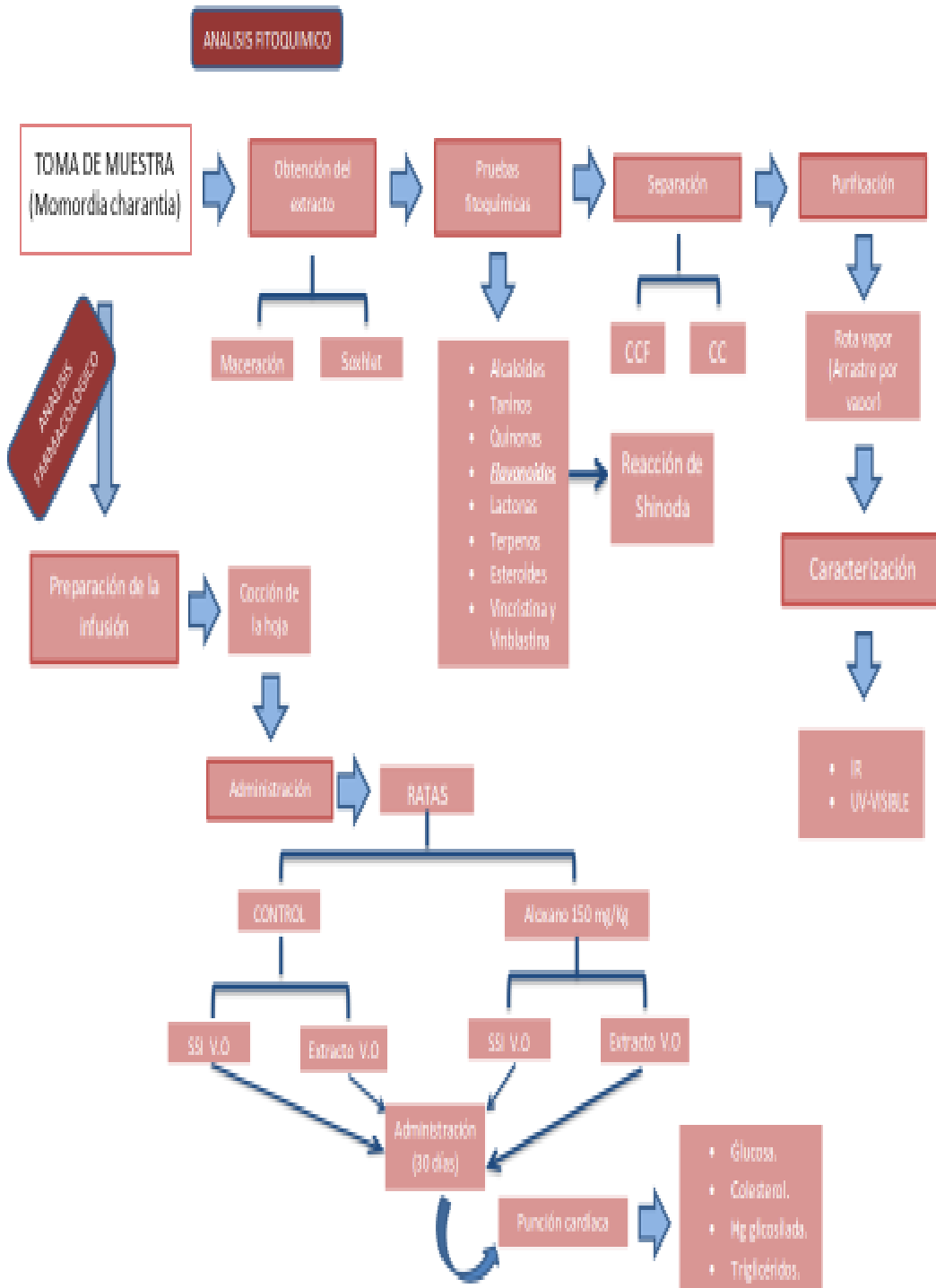
7.8.2 Reacción.

Se colocan 20 gotas del extracto en un tubo de ensayo, agregar 2 a 3 virutas de Mg y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Observar el cambio de coloración ⁽³⁴⁻³⁷⁾.

Al llevar a cabo esta reacción con el extracto de *Momórdica* se obtuvo diferentes tipos de flavonoides como:

Soluciones	Coloración	Resultado
Agua	Amarillo rojizo	Isoflavonas
Etanol	Amarillo a rojo	Flavonas y flavonoles
H ₂ O/EtOH (1:1)	Rojo	Flavanonas
H ₂ O/EtOH (3:1)	Amarillo a rojo	Flavonas y flavonoles
EtOH/H ₂ O (3:1)	Rojo a magenta	Flavononoles

El esquema 1, nos representa la obtención, las pruebas Fitoquímicas, de caracterización y análisis farmacológico del extracto de *Momórdica charantia*.



Esquema 1. Diagrama de trabajo para la obtención y análisis del extracto de *Momórdica charantia*.

7.9 Pruebas Farmacológicas.

7.9.1 Animales de experimentación.

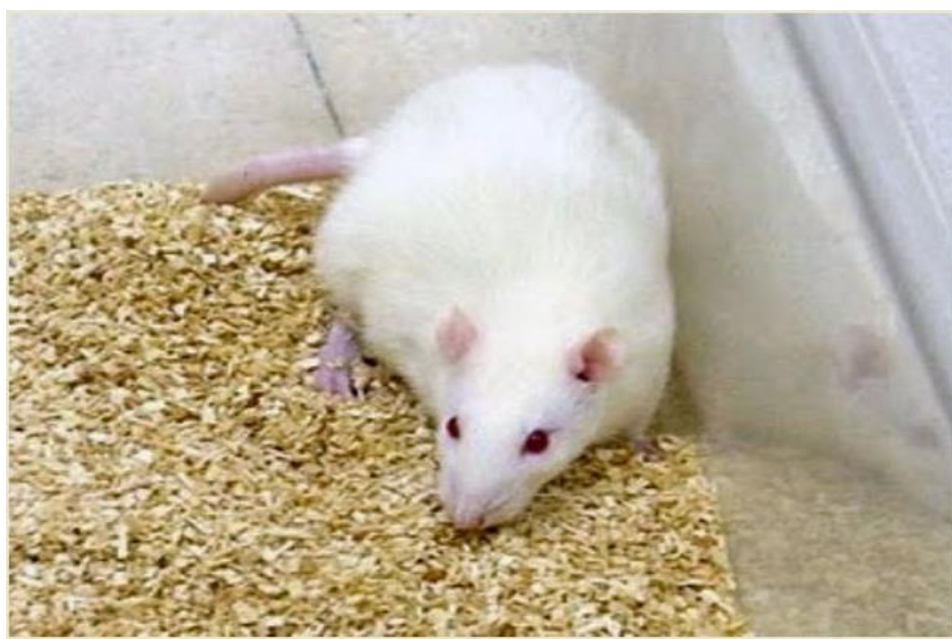
Los animales de experimentación serán Ratas Wistar (hembras de 150 g a 250 g), éstas se mantendrán en condiciones estándar de laboratorio y alimentadas con comida estándar y agua.

Los animales se dividirán en 2 grupos y estos a su vez en otros 2 de 4 ratas hembras cada uno.

Se administraran a diario de la siguiente forma: GRUPO I: Control normal; GRUPO II: aloxano dosis de 150 mg/kg.

Las ratas del grupo I serán sanas (ratas control) de estas al primer subgrupo se les administrara SSI (solución salina isotónica), al segundo subgrupo el extracto ambas administraciones por V.O (vía oral). El grupo II se les dará una dosis de 150 mg/kg de aloxano para inducir diabetes a las ratas de experimento, de este a un subgrupo se le administrara SSI y V.O, al otro se tratara con el extracto V.O. Este procedimiento será por 30 días.

Al final del tratamiento se mantendrán en ayunas durante 9 horas, posteriormente se les realizará la toma de muestra sanguínea por punción cardiaca para demostrar el efecto hipoglucemiante de la planta. También se evaluara insulina, colesterol, triglicéridos y Hb glicosilada.



VIII.TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.

8.1 Cromatografía de columna (CC).

La mezcla de disolventes para la separación de los compuestos se sigue con la cromatografía en columna con la fase estacionaria de gel de sílice. Una vez armada la columna cromatografía se coloca la muestra y se cubre con algodón, luego se agregará la mezcla de disolventes y se deja correr la fase móvil, posteriormente se van recolectando las fracciones en tubos de ensayo. A las fracciones obtenidas se les realiza cromatografía en capa fina con el mismo disolvente que se corrió la cromatografía de columna ^(19, 20).



Figura 16. Cromatografía en columna

8.2 Cromatografía en capa fina (CCF).

Para la selección de la fase móvil utilizada en la técnica de cromatografía en capa fina y cromatografía en columna para el fraccionamiento del extracto de etano de *Momórdica charantia* se realizará por el método rutinario de prueba y error observando las series alotrópicas de los disolventes comenzando con los menos polares (cloroformo, éter etílico, hexano) a los más polares (acetato de etilo, acetona, metanol) y luego realizar las mezclas con lo anteriores disolventes.

Al extracto crudo de etanol se le realizara el estudio de CCF de la siguiente forma: disolver una pequeña cantidad de muestra en 0.5 mL de disolvente y mediante un capilar de vidrio aplicar en la parte inferior de la placa a cierta distancia del borde y se deja secar al aire libre. Se prepara la cámara donde está la mezcla de los disolventes necesario para la separación con 2.5 mL de mezcla de solvente. Se coloca la placa de CCF en la cámara que no sobrepase a la muestra aplicada, se cierra el recipiente y se deja que el líquido ascienda por capilaridad. Se saca la placa de CCF de la cámara de cromatografía cuando el eluyente llegue a unos mm de la parte superior de la placa, se deja secar al aire libre y se revela con la técnica de quema con ácido, se leen la presencia de manchas y se mide las distancias de las manchas separadas ⁽²²⁾.



Figura 17. Cromatografía en capa fina

Existen una serie de métodos analíticos que ayudan a la identificación de los analitos fitoquímicos; entre ellos encontramos a los métodos espectrofotométricos, los cuales se describen a continuación:

8.3 Método de espectroscopia infrarroja (IR).

Se utiliza un espectrofotómetro de transformada de Fourier marca Digilab Scimitar Series FTS 3000 MX. Se elaboraron pastillas transparentes con KBr (aglutinante) en las cuales se colocaron los extractos a analizar. Esta técnica permite observar las transiciones que se producen entre estados energéticos de vibración en el nivel electrónico fundamentalmente al irradiar la muestra con radiación infrarroja. La técnica permite identificar especies químicas, al determinar el número de onda al que los grupos funcionales presentan bandas de absorción.



Figura 18. Espectrofotómetro FTIR

8.4 Método de espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS).

Los análisis de los extractos se harán en el laboratorio instrumental mediante espectroscopia UV-VIS con el equipo de CARY 100 de VARIAN; las muestras de los extractos fueron colocados en una celda de cuarzo de 5 mL para su respectiva caracterización. Las longitudes de onda de los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlace en una determinada molécula, y determinan los grupos funcionales dentro de la molécula ⁽²³⁾.



Figura 19. Espectrofotómetro UV-VIS

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

9.1 Espectroscopia Infrarrojo (IR).

En la figura 20, se muestran los espectros de IR con Transformadas de Fourier del extractos de *cundeamor* y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna etiquetadas como fracción 1 *cundeamor* (F1 CA), fracción 2 *cundeamor* (F2 CA), fracción 3 *cundeamor* (F3 CA), fracción 4 *cundeamor* (F4 CA) y fracción 5 *cundeamor* (F5 CA).

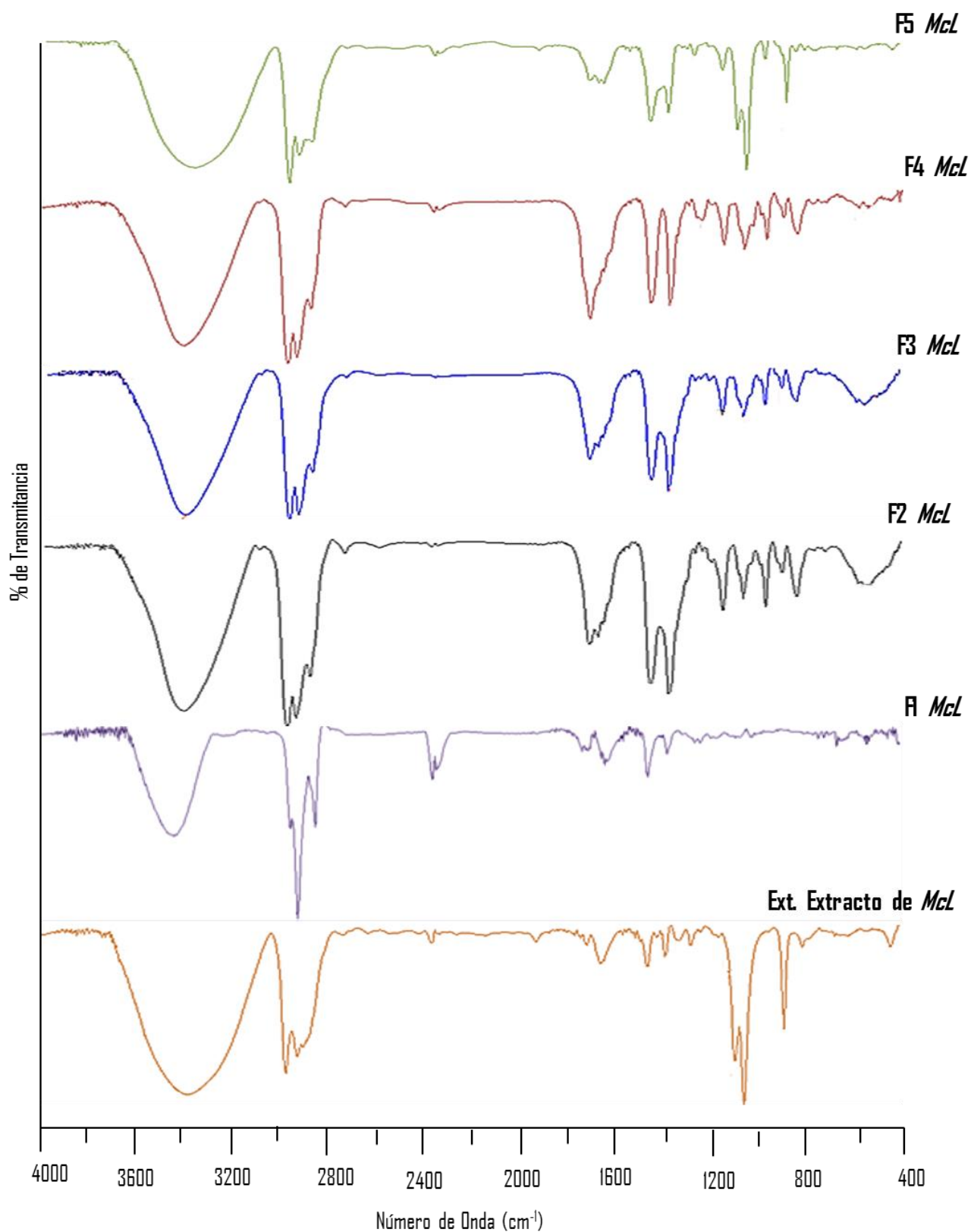


Figura 20. Espectros de IR del extracto de cundeamor y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna,

El espectro de FTIR del extracto de cundeamor (curva negra), muestra una banda de absorción ubicada en $3\ 386.0\ \text{cm}^{-1}$ se observa una banda de absorción ancha, que identifica al modo de vibración tipo alargamiento de los grupos hidroxilos ($\nu_{\text{O-H}}$) asignados a los grupos hidroxilos (OH^-) del agua (H-OH) y al modo de vibración ($\nu_{\text{N-H}}$) del extracto de *Momórdica charantia*. Hacia $2\ 975.0\ \text{cm}^{-1}$, se localizan los modos de vibración tipo alargamiento ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$) de los grupos C-H metilos y metilenos, además del modo de vibración del CH_3 fuera de fase degenerada δ_{CH_3} . La banda de absorción en $1\ 647.0\ \text{cm}^{-1}$, representa a los modos de vibración ($\nu_{\text{C=N}}$), del tipo flexión (ν_{OH}), y a la deformación δ_{HOH} del agua coordinada, así como el modo de vibración ($\nu_{\text{C-C}}$) y el modo de vibración ($\nu_{\text{C=O}}$) de las quinonas. A $1\ 456.0\ \text{cm}^{-1}$ se localizan las vibraciones de tipo alargamiento simétricas ν_{COO^-} y el modo de vibración de doblaje de deformación fuera de fase degenerado $\delta_{\text{CH}_3}^{\text{as}}$. En $1\ 379.0\ \text{cm}^{-1}$ se ubican los modos de vibración de formación en fase δ_{CH_3} tipo torsión y en $1322.0\ \text{cm}^{-1}$, el modo de vibración de doblaje de deformación δ_{CH_3} y el modo de vibración de ($\nu_{\text{C-CO-C}}$). La banda localizada en $1\ 157.0\ \text{cm}^{-1}$ de absorción es asignada al modo de vibración tipo alargamiento de los grupos C-C ($\nu_{\text{C-C}}$), y C-O ($\nu_{\text{C-O}}$) asignada al monómero. La banda ubicada en $1068.0\ \text{cm}^{-1}$ corresponde al modo de vibración (ν_{CH_2}) tipo balanceo, así como también se le asocia al modo de vibración ($\nu_{\text{O-C-C}}$) y en $1049.0\ \text{cm}^{-1}$ se ubica el modo de vibración ($\nu_{\text{O-C-C}}$). Hacia regiones de baja energía del espectro infrarrojo en $631.6\ \text{cm}^{-1}$, se ubican los modos de vibración de doblaje fuera del plano ($\gamma_{\text{C.H}}$) de las olefinas.

Los espectros de infrarrojo de los extratos de *Momórdica charantia* de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna, expresados en la figura 20, presentan los mismos modos de vibración respecto a la *Momórdica charantia*, cuyas intensidades se ven disminuidas, posiblemente porque la concentración de cada sustancia activa presentes en la *Momórdica charantia* (flavonoides, alcaloides como vincristina y vinblastina, esteroides, terpenos y taninos) disminuye por el paso en la cromatografía en columna.

9.2 Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS).

La figura número 21, muestran el espectro de UV-VIS del extracto de *Momórdica charantia* y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna, etiquetadas de la misma forma que en el IR.

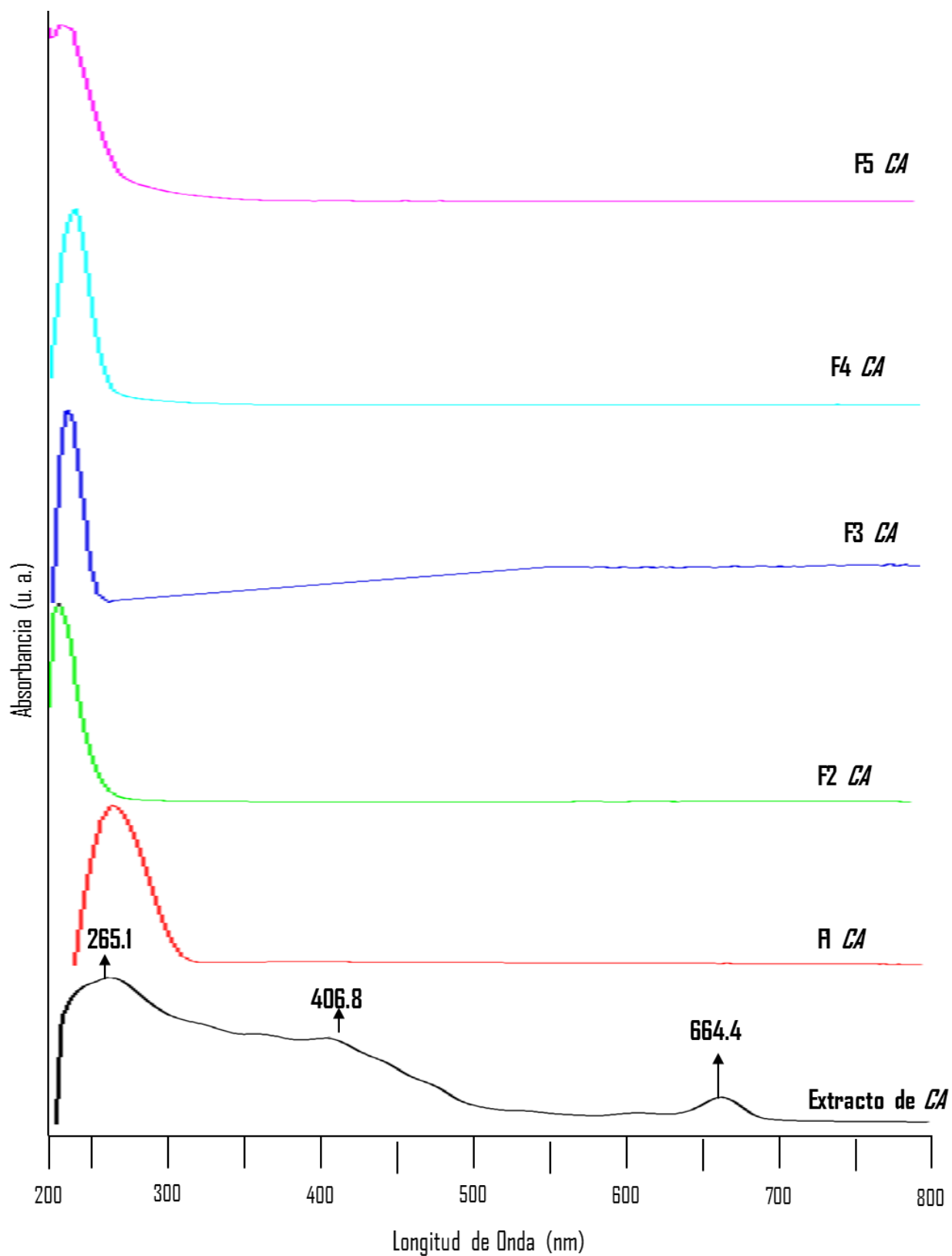


Figura 21. Espectros de UV-VIS del extracto de cundeamor y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna.

El espectro de UV-VIS del extracto del cundeamor (CA), se observan tres picos de máxima absorción. Uno en la región del espectro visible cuyo valor de longitud de onda se encuentra en 664.4 nm el cual corresponde a los oxipolienatos: $O=CH-(CH=CH)_n-O^-$ de los terpenos. En 406.8 nm se ubica el segundo pico de máxima absorción (en los límites del espectro ultravioleta y visible) correspondiente a las cianinas: $(CH_3)_2N-(CH=CH)_n-CH=N+(CH_3)_2$ de los esteroides y alcaloides y el tercer pico de máxima absorción localizado en la región del espectro ultravioleta de longitud de onda igual a 265.1 nm auxóchromos o cromóforos de los heterociclos aromáticos de cinco miembros, al dieno homoanular, a los bencenos monosustituídos por grupos auxóchromos y a los derivados bencénicos del tipo YArCOX.

Los espectros de UV-VIS de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna de la *Momórdica charantia*, solo presentan el pico de máxima absorción de 265.1 nm.

9.3 Pruebas farmacológicas.

Los animales fueron divididos en cuatro grupos experimentales (n=4/grupo), a los cuales se les administró SSI, Extracto acuoso de Momórdica charantia, Alozano + SSI y Alozano + extracto de Mcl respectivamente.

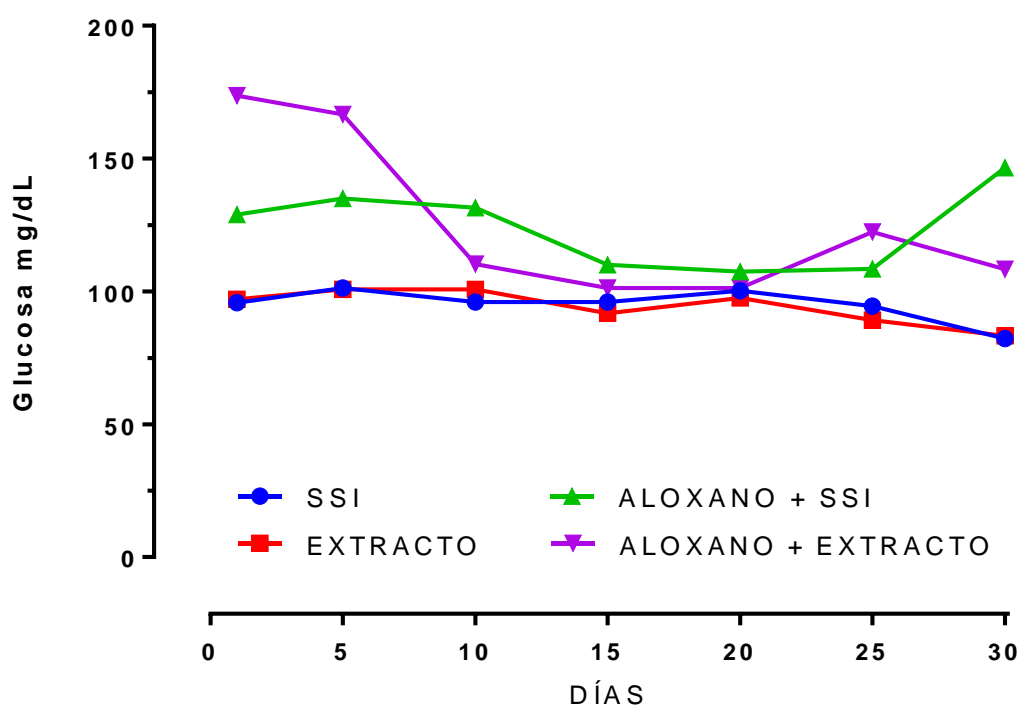


Figura 22. Efecto de glucosa de los cuatro grupos (n=4/grupo) de ratas Wistar en tratamiento con Momórdica charantia durante 30 días.

A los animales de cada grupo se les administraron las soluciones antes mencionadas a cada grupo, esto se realizó durante 30 días. Los resultados presentes en la figura 22 muestran que nuestros grupos control (SSI y extracto) iniciaron con una glucosa de 95mg/dL lo cual es una glucosa dentro de parámetros normales, a diferencia de nuestros grupos problema (Alox + SSI y Alox + Ext)

los cuales presentaron una glucosa inicial de 130 mg/dL y 180 mg/dL respectivamente, obteniendo glucosas por arriba de los valores normales; obteniendo estos parámetros elevados se empezó a tratar con el extracto acuoso de Momórdica charantia observando una constante disminución en los niveles de glucosa en el grupo problema de aloxano + extracto obteniendo una glucosa final a los 30 días del tratamiento de 120 mg/dL, habiendo una disminución en su glucosa; podemos observar que a las ratas diabéticas a las cuales solo se les administraba SSI se fue elevando su glucosa en sangre al no tener un tratamiento con Momórdica charantia; al grupo control tratado con el extracto de Momórdica charantia lo mantuvo en los parámetros normales.

El análisis estadístico indica que existe una diferencia significativa entre el grupo de Alox + extracto con respecto al grupo control, pero a los 15 días de tratamiento alcanzó una similitud en los valores de glucosa.

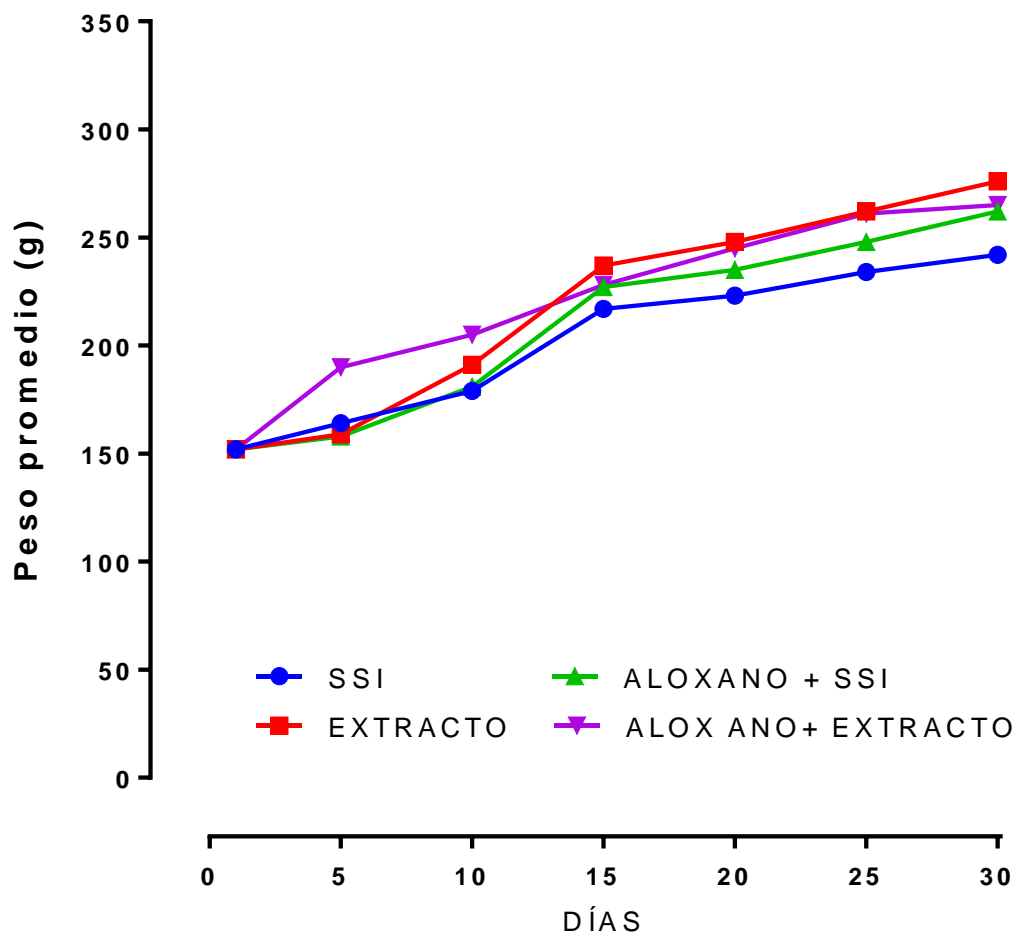


Figura 23. Evaluación de peso de los animales tratados con SSI y Extracto de Momórdica charantia durante 30 días. Se formaron cuatro grupos experimentales (n=4/grupo): control (SSI), extracto acuoso de Momórdica charantia (Mcl), Aloxano + SSI y Aloxano + extracto, los cuales fueron pesados cada 5 días durante 30 días de tratamiento.

Los animales fueron pesados durante los 30 días del desarrollo del tratamiento experimental comenzando con un peso de 150 kg cada grupo. Los resultados muestran que el grupo control presenta un incremento obteniendo un peso final de 240 kg; el grupo control tratado con el extracto presentó un incremento de peso obteniendo como peso final 260 kg; de los grupos problemas tratados con SSI y el extracto de Momórdica charantia se observó también incremento

en el peso de las ratas diabéticas teniendo estas un peso final de 250 kg cada uno, pero en el grupo tratado con solución salina se observó una baja d peso los días 20 y 25 de tratamiento.

El análisis estadístico no indicó la existencia de una diferencia significativa de cada uno de los grupos experimentales con respecto al grupo control. Sin embargo se puede observar que los grupos con ratas diabéticas muestran un mayor aumento de peso en comparación con las ratas normales.

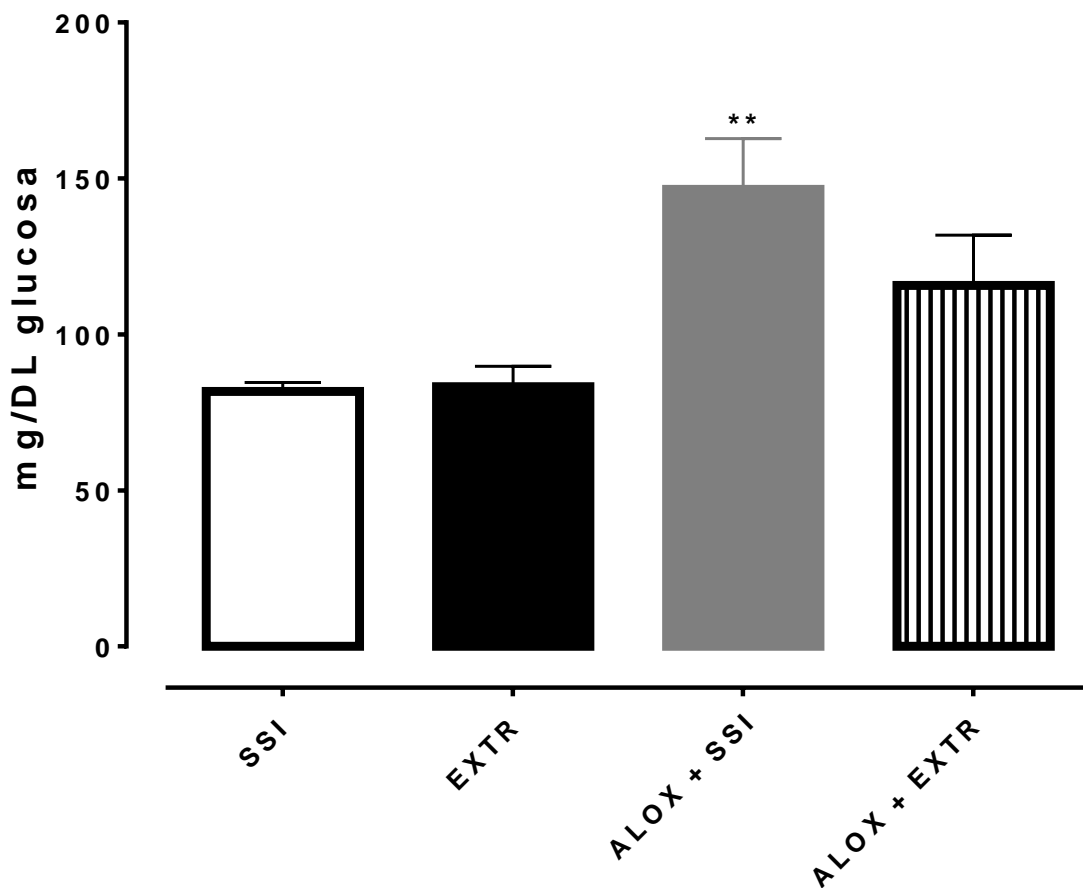


Figura 24. Efecto del extracto de Momórdica charantia a los 30 días de tratamiento sobre los niveles de glucosa en sangre en cuatro grupos de ratas (n=4/grupo).

En la figura anterior se muestran los niveles de glucosa de cada grupo después de 30 días de tratamiento con SSI y extracto de Momórdica charantia respectivamente. Los resultados obtenidos para los grupos control (tratados con SSI y extracto) fueron de 85 mg/DL, encontrándose estos dentro de parámetros normales de niveles de glucosa, lo que nos dice que nuestro extracto no afecta su consumo en pacientes sanos. Por otro lado tenemos a los grupos de ratas diabéticas donde el tratado con SSI arrojó una glucosa final (posterior a los 30 días de tratamiento) de 150 mg/DL; a diferencia, el grupo de ratas diabéticas tratadas con el extracto acuoso de Momórdica charantia en la figura se muestra que después de los 30 días de tratamiento con dicho extracto se obtuvo una disminución en los niveles de glucosa, dando este un resultado final de 120 mg/DL en promedio a las 4 ratas del grupo.

El análisis estadístico nos muestra una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de ratas diabéticas no tratadas. Sin embargo podemos observar que hay una disminución en la glucosa del grupo diabético que si fue tratado con un hipoglucemiante (en este caso el extracto acuosa de Momórdica charantia el cual se quiere comprobar ese efecto).

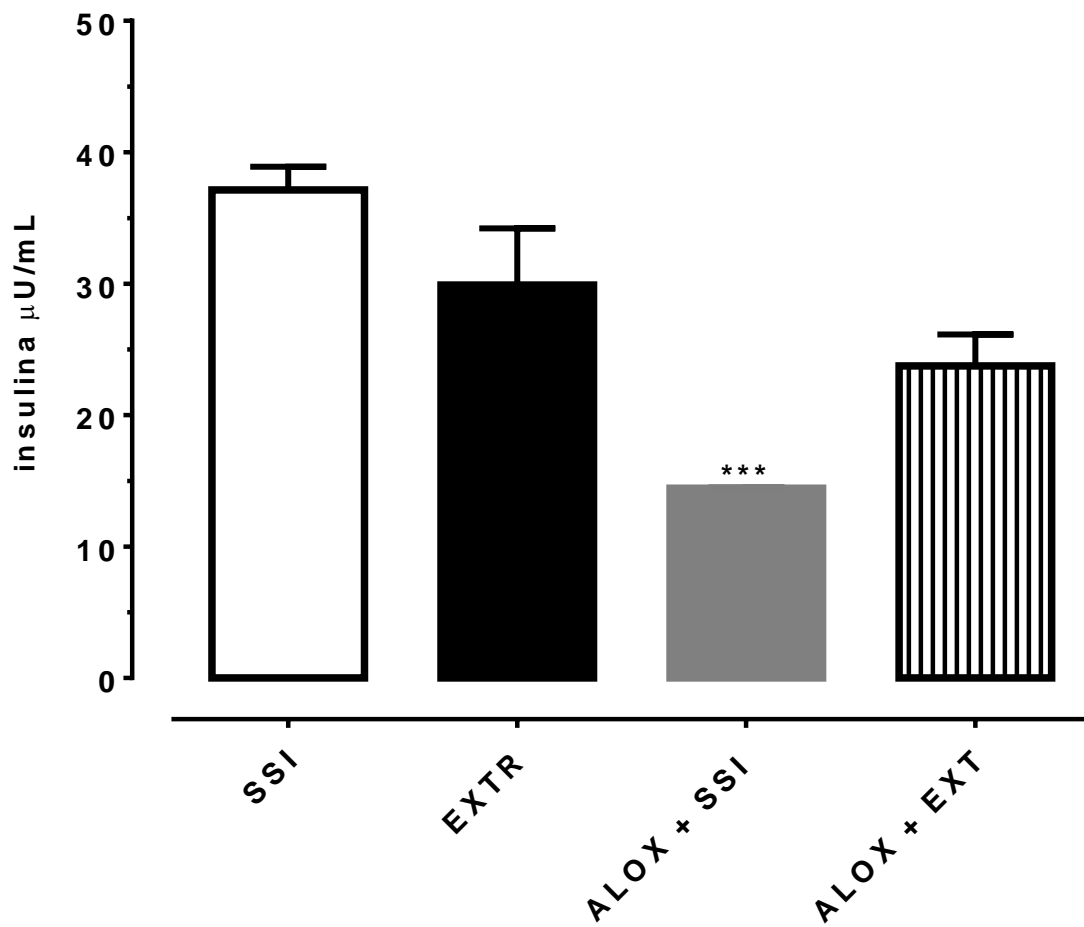


Figura 25. Evaluación de insulina posterior a los 30 días de tratamiento con el extracto de *Momordica charantia* en cuatro grupos de ratas (n=4/grupo).

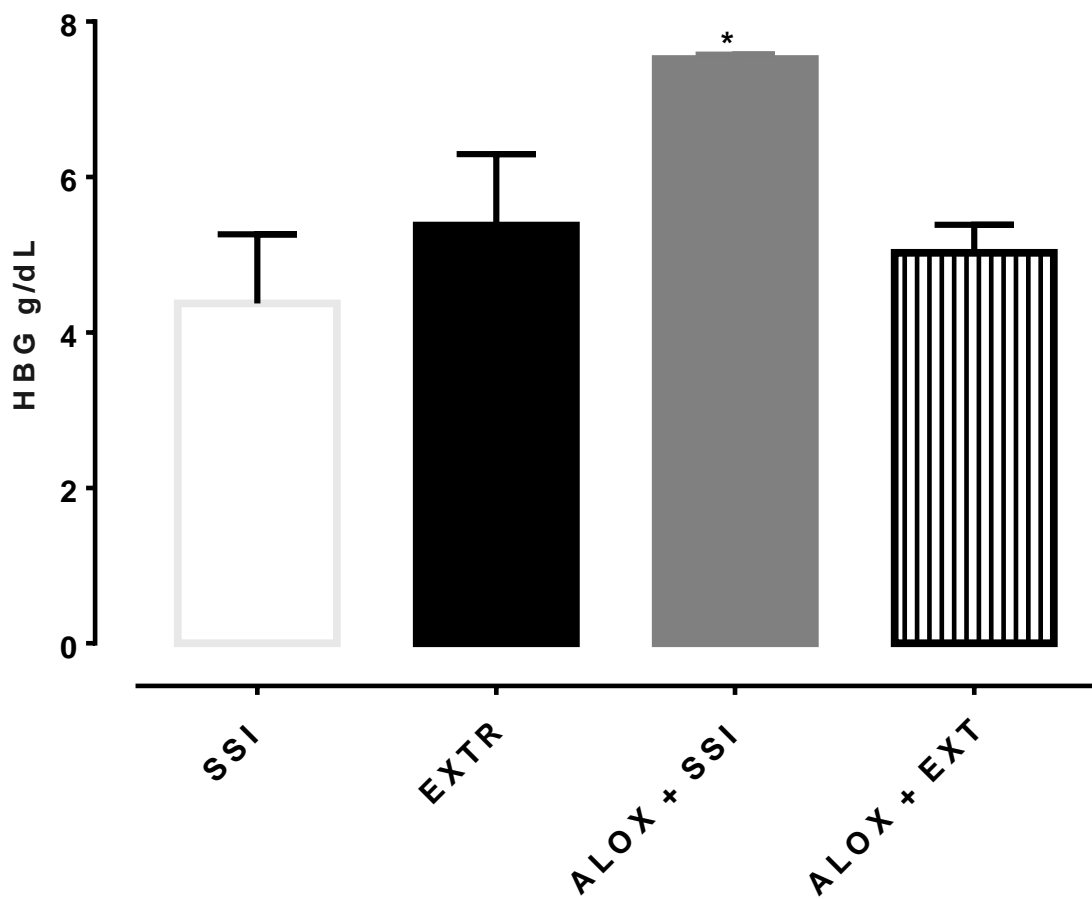


Figura 26. Evaluación de la Hb Glicosilada a los 30 días de tratamiento con el extracto acuoso de Momórdica charantia en cuatro grupos de ratas Wistar (n=4/grupo).

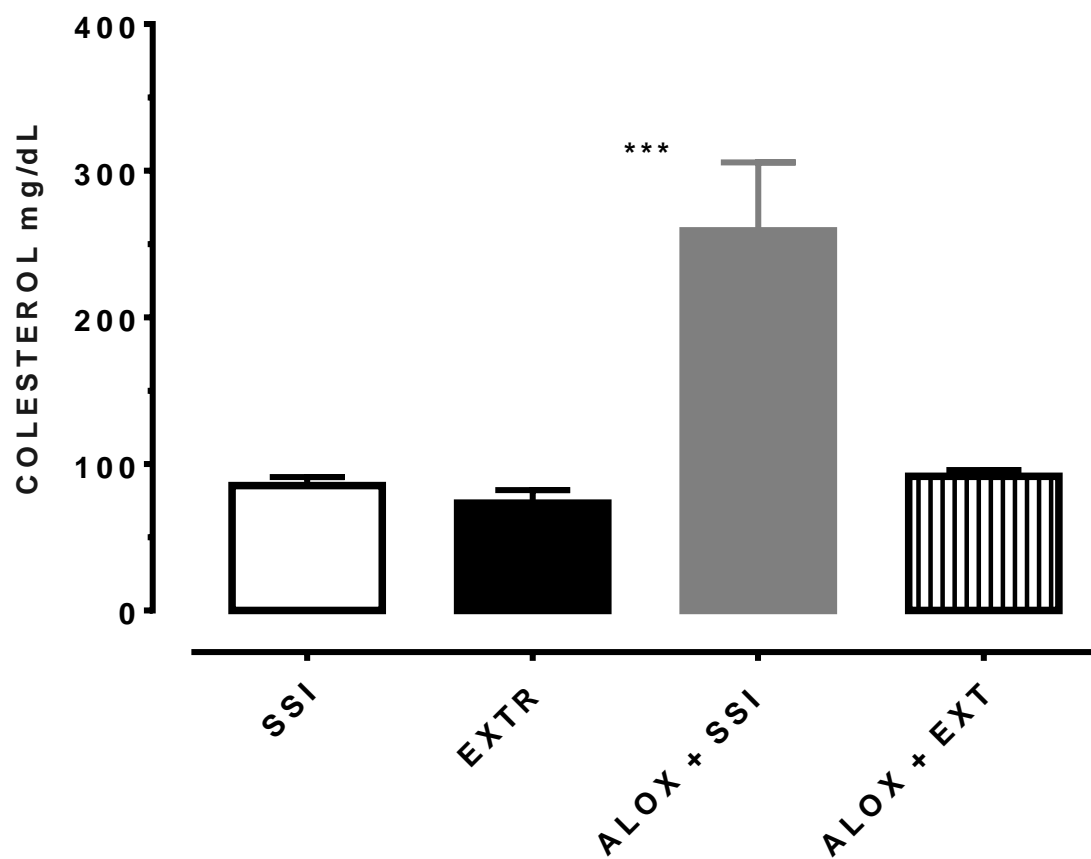


Figura 27. Efecto del extracto de *Momórdica charantia* sobre los niveles de colesterol en cuatro grupos de ratas Wistar (n=4/grupo): control SSI y Extracto de *Momórdica charantia*; grupo problema (ratas diabéticas) Aloxano + SSI y Aloxano + extracto.

En la figura anterior se puede observar claramente el efecto que tiene el extracto de Momórdica charantia en el control de colesterol en pacientes diabéticos, coincidiendo el valor de los niveles de colesterol del grupo de ratas diabéticas con el grupo control lo cual se encuentran con valores dentro de los parámetros normales, a diferencia del grupo de ratas diabéticas no tratadas con el extracto.

El análisis estadístico indicó una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de ratas diabéticas no tratadas, donde este da un valor en los niveles de colesterol de 260 mg/dL.

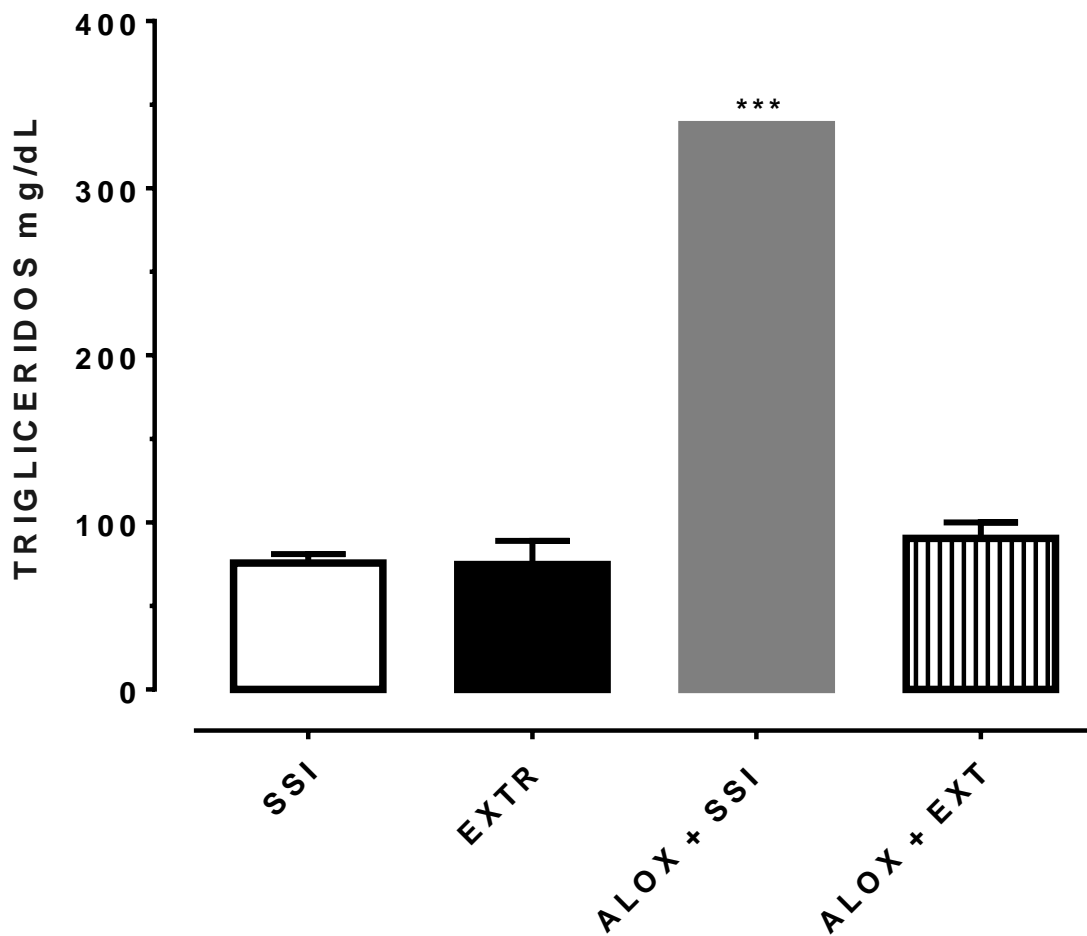


Figura 28. Efecto del extracto de Momórdica charantia sobre los niveles de Triglicéridos en cuatro grupos de ratas Wistar

(n=4/grupo): control SSI y Extracto de Momórdica charantia; grupo problema (ratas diabéticas) Aloxano + SSI y Aloxano + extracto.

En la figura anterior se puede observar claramente el efecto que tiene el extracto de Momórdica charantia en el control de los niveles de triglicéridos en pacientes diabéticos, obteniendo un valor aproximadamente similar a los del grupo control (80 mg/dL), siendo los niveles de triglicéridos del grupo de ratas diabéticas después de ser tratadas durante 30 días con el extracto acuoso de Momórdica charantia de 85 mg/dL; lo cual se encuentran con valores dentro de los parámetros normales, a diferencia del grupo de ratas diabéticas no tratadas con el extracto.

El análisis estadístico indicó una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de ratas diabéticas no tratadas, donde este último da un valor en los niveles de triglicéridos de 350 mg/dL.

9.4 Características fisicoquímicas de Momórdica charantia (cundeamor).

El análisis fisicoquímico partió de la obtención del extracto acuoso de Momórdica charantia al agregar aproximadamente 10g en 500ml de agua destilada e inducirla a ebullición, posterior a esto se dejó enfriar a temperatura ambiente para su utilización en las pruebas fisicoquímicas.

El análisis fisicoquímico realizado al extracto acuoso mostrado en el ANEXO 6 revelo lo siguiente:

OLOR	Característico
COLOR	Verde intenso
pH	9
DENSIDAD	1,00
DETERMINACION DE HUMEDAD	92.60%

Tabla 1. Resultados del análisis fisicoquímico realizados al extracto de Momórdica charantia.

Las características organolépticas presentes en el extracto acuoso de Momórdica charantia corresponden con las características organolépticas reportadas para la familia L. cucurbitáceae.

El pH que presenta esta planta es básico (pH >7) teniendo una solución muy básica.

Es comprensible que Momórdica charantia haya presentado una humedad del 92.60% de la masa total fresca, ya que es una planta tropical.

La densidad relativa presente (1,00 a 25°C) es justificable debido a la cantidad de componentes (metabolitos) presentes en el extracto.

9.6 Cromatografía de capa fina.

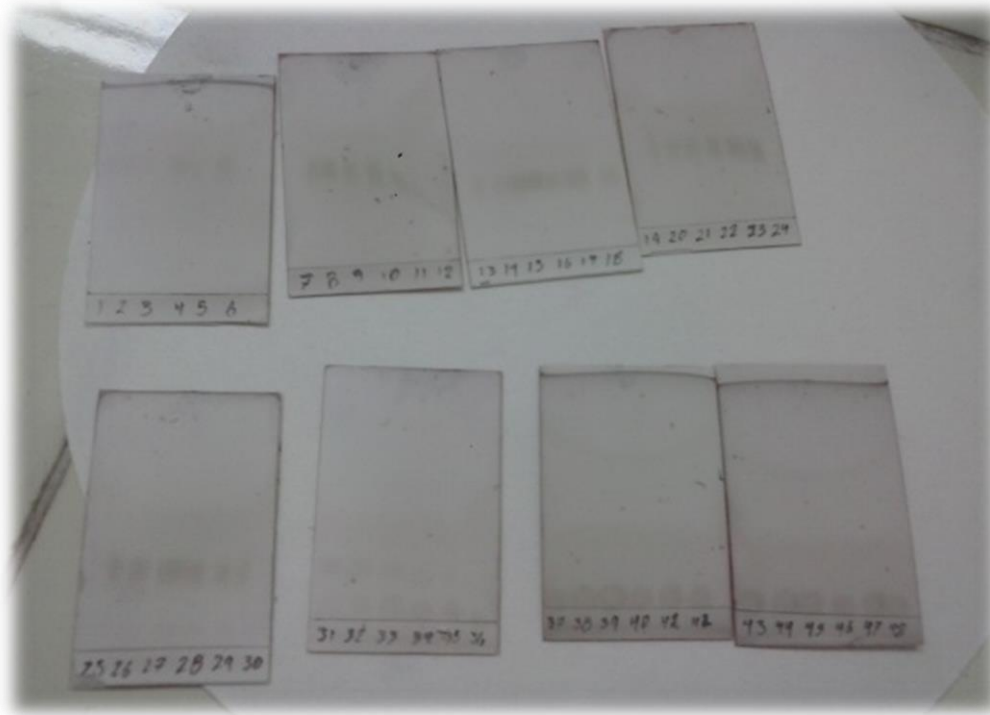


Figura 29. Resultados de las fracciones obtenidas por CC, reveladas por el método de ácido en CCF.

En la figura anterior podemos observar el corrimiento de las diferentes fracciones obtenidas por la cromatografía en columna.

X. CONCLUSIONES.

- Los metabolitos secundarios presentes principalmente en el extracto de *Momórdica charantia* (Cundeamor) son alcaloides, quinonas, taninos, terpenos, flavonoides siendo estos últimos por su efecto antioxidante los responsables del efecto preventivo que tiene el consumo sobre las enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras enfermedades degenerativas.

- Los resultados sugieren que el extracto de *Momórdica charantia* muestra una actividad hipoglucemiante y antihiperlipidémica prolongada, considerándose como una opción terapéutica para la Diabetes mellitus II (DM II).

- Los resultados muestran la disminución significativa en la concentración de glucosa desde los 5 días y hasta los 30 días posteriores a la administración de la infusión de las hojas de *Momórdica charantia*. Así mismo, la concentración de colesterol y triglicéridos, mostrando una recuperación significativa a sus niveles normales.

XI. ABREVIATURAS.

BHK-21: Baby hamster kidney Cells.

CC: Cromatografía de columna.

CCF: Cromatografía de capa fina.

CA: Cundeamor.

dL: Decilitros.

DR: Doctor

DM1: Diabetes mellitus 1.

DM2: Diabetes mellitus 2.

DNA: Acido dexosirribunocleico.

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.

EtOH: Etanol.

FMD: Federación mexicana de diabetes.

HCl: Ácido clorhídrico.

H₂O: Agua.

HbG: Hemoglobina glicosilada.

IR: Infrarrojo.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

IDF: International Diabetes Federation.

KBr: Bromuro de potasio.

Kg: Kilogramos.

Mcl: Momórdica charantia.

MC: Maestro en ciencias.

mg: Miligramos.

mL: Mililitros.

NaOH: Hidróxido de sodio.

nm: Nanómetros.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

RNA: Ácido ribonucleico.

SSA: Secretaria de Salud.

SR: solución reactivo.

SSI: Solución salina isotónica.

UV-VIS: Ultravioleta visible

VO: Vía oral

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.

XII. GLOSARIO.

Escabiático: (Escabiosis o sarna), es una enfermedad de la piel causada por el ácaro parásito *Sarcoptes scabiei*, llamado comúnmente arador de la sarna. Es una ectoparasitosis de distribución mundial en todas las razas. Se caracteriza por una erupción papuloeritematosa muy pruriginosa causada por la penetración de la hembra adulta de los ácaros en la capa superior de la epidermis, donde crea túneles serpiginosos.

Antiescabiático: Sustancia o fármaco que tiene efecto contra la enfermedad de la piel causada por el ácaro parásito *Sarcoptes scabiei*.

Anticrotálico: Sustancia o fármaco que tiene un efecto contra venenos.

Antitumoral: Dícese de la sustancia o el fármaco que impide el crecimiento de tumores, el crecimiento anormal de las células.

Auxòcromos: Es un grupo que aviva el color; esto es, que desplaza el máximo de absorción en el UV-Visible, hacia longitudes de onda más largas y aumenta la intensidad de la absorción. Los grupos auxocromos desplazan la absorción hacia longitudes de ondas por debajo de la zona visible.

Colitis: Es una inflamación del intestino, específicamente del revestimiento del intestino grueso (colon) o del recto, que no hay que confundir con la diarrea, aunque en el lenguaje coloquial muchas veces se aluda a ambas de manera indistinta.

Caducifolio: Del latín *cadūcus* («caduco, caído», participio de *cadēre* «caer») y *folĭum* («hoja»), hace referencia a los árboles o

arbustos que pierden su follaje durante una parte del año, la cual coincide en la mayoría de los casos con la llegada de la época desfavorable, la estación más fría (invierno) en los climas templados. Sin embargo, algunos pierden el follaje durante la época seca del año en los climas cálidos y áridos.

Cromóforos: Es la parte o conjunto de átomos de una molécula responsable de su color. También se puede definir como una sustancia que tiene muchos electrones capaces de absorber energía o luz visible, y excitarse para así emitir diversos colores, dependiendo de las longitudes de onda de la energía emitida por el cambio de nivel energético de los electrones, de estado excitado a estado fundamental o basal.

Disentería: Enfermedad infecciosa que se caracteriza por la inflamación y ulceración del intestino grueso acompañada de fiebre, dolor abdominal y diarrea con deposiciones de mucosidades y sangre.

Etnobotánica: Se refiere al estudio de las relaciones que existen entre las plantas y los grupos locales, cómo se relacionan y cómo influyen las plantas en el desarrollo de las culturas.

El estudio de la etnobotánica es especialmente importante en el trópico húmedo, debido a que en estas zonas, es en donde se concentra la mayor diversidad biológica y cultural del planeta

Extracto: Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.

Eluyente: Fase móvil que se ocupa en una cromatografía.

Fitoquímica: Parte de la bioquímica que se ocupa de los procesos químicos de las plantas.

Floculante: Es una sustancia química que aglutina sólidos en suspensión, provocando su precipitación.

Glucoproteínas: Proteínas conjugadas que contienen uno o más sacáridos como grupos prostéticos, los cuales carecen de unidad repetitiva seriada y están unidos covalentemente a una cadena peptídica.

Genotoxicidad: Es la capacidad para causar daño al material genético por agentes físicos, químicos o biológicos; el daño en el material genético incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes celulares que se encuentran relacionados con la funcionalidad y comportamiento de los cromosomas dentro de la célula.

Hipoglucemia: Es un estado definido por una concentración de glucosa en la sangre anormalmente baja, inferior a 50-60 mg/100 ml.^{1 2} Se suele denominar shock insulínico, por la frecuencia con que se presenta en pacientes con diabetes mellitus en tratamiento con insulina.

Hiper glucemia: Cantidad excesiva de glucosa en la sangre.

Hipoglucemiante: Dícese del fármaco que posee la capacidad de disminuir los niveles de glucosa en sangre. Los hipoglucemiantes como la insulina, las sulfamidas y las biguanidas se utilizan en el tratamiento de la diabetes.

Insulina: (del latín insula, "isla") es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, producida y secretada por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas.

La insulina interviene en el aprovechamiento metabólico de los nutrientes, sobre todo con el anabolismo de los glúcidos.

Intraperitoneal: Cavidad dentro del abdomen.

Infusión: Bebida agradable o medicinal que se prepara hirviendo o echando en agua muy caliente alguna sustancia vegetal, como hojas, flores, frutos o cortezas de ciertas plantas, y dejándola unos minutos de reposo.

Metabolitos: Un metabolito es cualquier molécula utilizada, capaz o producida durante el metabolismo. Así, dada la ruta metabólica: A, B, C, D, E son los metabolitos; el primer metabolito de la ruta suele denominarse sustrato, el último producto y el resto metabolitos intermediarios.

Metabolito primario: Muy abundantes en la naturaleza, son indispensables para el desarrollo fisiológico de la planta; se encuentran presentes en grandes cantidades, son de fácil extracción y su explotación es relativamente barata (Petiard y Bariaud-Fontanel, 1987) y conducen a la síntesis de los metabolitos secundarios. Entre ellos se encuentran aminoácidos proteicos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos, algunos ácidos carboxílicos, etc.

Metabolito secundario: Son derivados de los primeros, pero su distribución en el reino vegetal es más limitada y para determinados compuestos queda restringida a ciertas especies e incluso a algunos grupos dentro de una misma especie, por lo tanto es improbable que desarrollen un papel fundamental en el metabolismo primario. Sin embargo, existen excepciones, entre estas están las clorofilas y los reguladores del crecimiento (hormonas vegetales), de los que sus funciones bioquímicas y fisiológicas han sido ampliamente reconocidas; además, recientemente se estableció que los flavonoides son factores que inducen la germinación del polen y la elongación del tubo polínico.

Nucleósido: Es una molécula monomérica orgánica que integra las macromoléculas de ácidos nucleicos que resultan de la unión covalente entre una base nitrogenada con una pentosa que puede ser ribosa o desoxirribosa. Ejemplos de nucleósidos son la citidina, uridina, adenosina, guanosina, timidina y la inosina.

Perennifolio: Procede del latín *perennis*, duradero, perenne, y de *folium*, hoja. Esta flora también recibe el nombre de *sempervirente* o *siempre verde* ya que, pese a que existe en zonas de estaciones frías, siempre mantiene el follaje. Lo mismo pasa con su primo cercano el angelfodio.

Subcaducifolio: Se definiría como flora que forma parte de un bosque y que pierde temporalmente sus hojas durante determinada época del año.

Vermífugas: Propiedad de una sustancia o planta medicinal que sirve para expulsar los gusanos intestinales (lombrices y oxiuros).

XIII. ANEXOS.

Anexo 1. Estudios fisicoquímicos.

Las sustancias que las plantas elaboran y acumulan en sus tejidos son importantes desde el punto de vista farmacológico, ya que muchas poseen propiedades farmacológicas y por ello pueden utilizarse en la preparación de medicamentos ⁽³⁸⁾.

El conjunto de reacciones químicas que tiene lugar en un organismo lo constituye el metabolismo. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos los cuales se encuentran presentes en plantas, estos se denominan metabolitos primarios.

Pero a diferencia de otros organismos las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, a los que se les denominan metabolitos secundarios ⁽³⁹⁾.

Los metabolitos secundarios se clasifican en cuatro grupos:

- a) **Terpenos:** Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- b) **Compuestos fenólicos:** Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- c) **Glicosidos:** Saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.
- d) **Alcaloides:** Papaverina, estriquina, quinina, morfina, vincristina y vinblastina.

La separación de los constituyentes es una tarea bastante ardua debido a que las plantas producen una gran cantidad de sustancias de todo tipo de estructuras.

El objetivo principal de la Fitoquímica es el estudio de los constituyentes químicos de las plantas, dicho estudio abarca su biosíntesis, metabolismo, distribución natural, función biológica, aislamiento, purificación y estructura química ⁽⁴⁸⁾.

El proceso de extracción regularmente ha utilizado disolventes orgánicos tales como: éter etílico, cloroformo, acetato de etilo, butanol, etanol, metanol, entre otros.

El subsecuente proceso de aislamiento y purificación de componentes, normalmente involucra partición entre disolventes inmiscibles, cristalización por enfriamiento de disoluciones del extracto crudo y técnicas cromatográficas que incluyen columnas y placas en general con gel de sílice como fase de separación como se muestra en la tabla 1.

EXTRACCION	Soxhlet Maceración Percolación Arrastre de vapor
SEPARACION Y PURIFICACION	Cromatografía en papel Cromatografía en capa fina Cromatografía líquida HPLC
DETERMINACION ESTRUCTURAL	Espectrofotometría Difracción de rayos X Reacciones de color y precipitación

Tabla 2. Técnicas utilizadas para la obtención de muestra de un análisis fitoquímico.

Anexo 2. Reactivo de Mayer.

El reactivo de Mayer se prepara disolviendo 1.3 g de bicloruro de mercurio en 60 ml de agua y 5 g de yoduro de potasio y se afora a 100ml. Los alcaloides se detectan como un precipitado blanco o de color crema soluble en ácido acético y etanol.

Precipitación de los alcaloides en forma de yodo mercuriados con el reactivo de Mayer concentrado; el complejo formado puede ser recuperado por filtración o centrifugación, para luego ser re disuelto en una mezcla de agua-alcohol-acetona y se separan los alcaloides haciéndolos pasar sobre resinas intercambiadoras de iones.

Anexo 3. Reactivo de Wagner.

El reactivo de Wagner se prepara disolviendo 1,27 gr de yodo (resublimado) y 2 gr de yoduro de potasio en 20 ml de agua, la solución se afora a 100 ml con agua destilada. La mayoría de las soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados floculantes color marrón.

Los alcaloides precipitados con el reactivo de Wagner pueden ser recuperados con una solución saturada de carbonato de sodio.

Anexo 4. Alozano.

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético.

Existen varias clases de agentes químicos. Los primeros son sustancias con citotoxicidad específica que destruyen las células β del páncreas y causan un estado de deficiencia primaria de insulina. El segundo grupo lo constituyen agentes que actúan sobre las células β pero no las destruyen. Una tercera clase incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan el páncreas y como consecuencia se produce la diabetes. Este último grupo incluye a las hormonas antagonistas de la insulina, anticuerpos anti-insulina y algunos agentes quelantes, en particular el Zinc.

Los agentes más utilizados son el alozano y la estreptozotocina. Estos compuestos en dosis diabetogénicas actúan específicamente sobre las células β .

El aloxano es producto de la oxidación del ácido úrico por el ácido nítrico o por una mezcla del ácido clorhídrico y de clorato de potasa: Cristaliza con cantidades variables de agua, según la forma que le afecta.

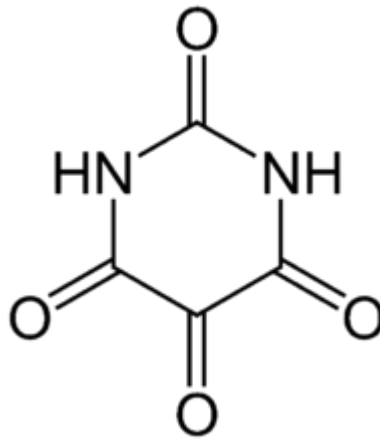


Figura 29. Estructura del aloxano.

Aunque desde hace muchos años se conoce la actividad diabético génica de esta sustancia, el mecanismo de acción es aún desconocido. Algunas evidencias indican que el efecto del aloxano es mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula β ⁽⁴⁹⁾.

Anexo 5. Función de metabolitos.

Alcaloides.

La función de los alcaloides en las plantas no es aun clara, existen algunas sugerencias sobre el “rol” que juegan estas sustancias en los vegetales como:

- Sirven como productos de desecho o almacenamiento del nitrógeno sobrante, esta función es equivalente a la del ácido úrico o de la urea en los animales.
- Debido a que en su mayoría, los alcaloides son asociados con ácidos orgánicos que le facilita el transporte en la planta, pueden servir como productos de almacenamiento del nitrógeno no metabolizado o para transporte del mismo; en el caso de las Solanáceas midriáticas, los ésteres del tropano se forman en las raíces y son transportados a las partes aéreas donde pueden ser hidrolizados.
- La microquímica ha permitido mostrar en forma general, que los alcaloides son localizados en los tejidos periféricos de los diferentes órganos de la planta, es decir en el recubrimiento de las semillas, corteza del tallo, raíz o fruto y en la epidermis de la hoja; esto nos permite pensar que los alcaloides cumplen una importante función como es la de proteger a la planta, por su sabor amargo de estos, del ataque de insectos.
- Los alcaloides pueden servir de reguladores del crecimiento, se ha demostrado que los alcaloides derivados de la putrescina se incrementan notablemente durante la germinación de algunas plantas como la cebada, cuando se encuentran en suelos deficientes de potasio.
- Mediante técnicas biotecnológicas, las plantas que normalmente acumulan alcaloides en las partes aéreas, como es el caso de la Nicotiana y Daturas, se han producido sin alcaloides, la pérdida de alcaloides en el vástago, no impide el desarrollo de la planta, lo cual sugiere que los alcaloides no son esenciales para los vegetales. Si bien, la presencia de alcaloides no es vital para la planta, estos deben de participar en secuencias metabólicas y no son solamente productos de desecho del metabolismo.

Vincristina.

La vincristina destruye las células cancerosas interfiriendo en la función de los genes y deteniendo la reproducción celular. Se utiliza para tratar el cáncer de mama en estadio avanzado.

Vinblastina.

Antineoplásico activo sobre microtúbulos, del grupo de los alcaloides y derivados de la Vinca. Actúan selectivamente durante la fase M (mitosis) del ciclo celular, inhibiendo la síntesis de microtúbulos celulares, que participan en la formación del huso mitótico.

Tratamiento paliativo de:

I.-Neoplasias que responden frecuentemente:

- [ENFERMEDAD DE HODGKIN] generalizada (fases III y IV, modificación de Ann Arbor del sistema de clasificación de Rye).
- [LINFOMA] linfocítico: nodular y difuso, poco y bien diferenciado.
- Linfoma histiocítico.
- [MICOSIS FUNGOIDE]: fases avanzadas.
- [CANCER DE TESTICULO] avanzado.
- [SARCOMA DE KAPOSÍ].
- [HISTIOCITOSIS X] (histiocitosis X).

II.-Neoplasias que responden con menos frecuencia:

- [CORIOCARCINOMA] resistente a otros quimioterápicos.
- [CANCER DE MAMA]: que no responde a cirugía endocrina y al tratamiento hormonal adecuado.

Aunque el fármaco es eficaz como agente único en las indicaciones mencionadas, es habitualmente administrado en combinación con otros antineoplásicos. La vinblastina como agente único ha demostrado ser uno de los fármacos más eficaces en la enfermedad de Hodgkin, no obstante, esta enfermedad ha sido tratada con éxito con varios regímenes de politerapia que incluyen a la vinblastina. Los cánceres testiculares avanzados de células germinales son sensibles a vinblastina por sí sola, pero se obtienen mejores resultados cuando se administra en poliquimioterapia.

Taninos.

En las plantas cumplen funciones de defensa ante el herbivorismo. Los taninos en general son toxinas que reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos herbívoros cuando se adicionan a su dieta. Además, tienen potencial de producir rechazo

al alimento ("antifedants" o "feeding repellents") en una gran diversidad de animales. Los mamíferos como la vaca, el ciervo y el simio característicamente evitan a las plantas o partes de las plantas con alto contenido de taninos. Las frutas no maduras, por ejemplo, con frecuencia tienen altos contenidos de taninos, que pueden estar concentrados en las capas celulares más externas de la fruta.

Es interesante el dato de que los humanos usualmente prefieren un cierto nivel de astringencia en las comidas que contienen taninos, como las manzanas, las zarzamoras, y el vino tinto. Recientemente, son los taninos del vino tinto los que mostraron poseer propiedades de bloquear la formación de endotelina-1, una molécula señal ("signaling molecule") que produce la constricción de los vasos sanguíneos, lo cual disminuiría el riesgo de enfermedades cardíacas a aquellos que consuman vino tinto en forma moderada.

Si bien hay taninos específicos que pueden ser saludables para el hombre, en general son tóxicos, debido a las mismas propiedades que los hace buenos para la curtiembre: su capacidad de unir entre sí proteínas de forma no específica. Durante mucho tiempo se pensó que los taninos formaban complejos con las proteínas del intestino de los herbívoros formando puentes de hidrógeno entre sus grupos hidroxilo y los sitios electronegativos de la proteína, pero evidencia más reciente también avala una unión covalente entre los taninos (y otros compuestos fenólicos provenientes de las plantas) y las proteínas de los herbívoros que los consumen. El follaje de muchas plantas contiene enzimas que oxidan los fenoles a sus formas quinona en los intestinos de los herbívoros.³ Las quinonas son altamente reactivas, electrofílicas, y reaccionan con los grupos de proteínas nucleofílicos $-NH_2$ y $-SH$. Cualquiera sea el mecanismo por el que ocurra la unión proteína-tanino, este proceso tiene un impacto negativo en la nutrición de los herbívoros. Los taninos pueden inactivar las enzimas digestivas de los herbívoros y crear complejos agregados de taninos y proteínas de plantas que son difíciles de digerir.

Los herbívoros que habitualmente se alimentan de material rico en taninos parecen poseer algunas interesantes adaptaciones para eliminar los taninos de sus sistemas digestivos. Por ejemplo, algunos mamíferos como los ratones y los conejos, producen

proteínas en la saliva que tienen un alto contenido de prolina (25–45%), que tiene una gran afinidad por los taninos. La secreción de estas proteínas es inducida por la ingestión de comida con un alto contenido de taninos, y su efecto es la disminución en una medida importante de los efectos adversos de la ingestión de taninos (Butler 19894). La alta cantidad de residuos de prolina le otorga a estas proteínas una conformación muy flexible y abierta, y un alto grado de hidrofobia que facilita su unión con los taninos.

Los taninos de las plantas también funcionan como defensas contra los microorganismos. Por ejemplo, el corazón de madera muerta de muchos árboles contiene altas concentraciones de taninos que ayudan a prevenir el desmoronamiento por ataques de hongos y bacterias patógenos.

Quinonas.

Las quinonas son muy abundantes en la naturaleza, en el Reino Vegetal se encuentran tanto en vegetales superiores como en hongos y bacterias. Dependiendo del grado de complejidad de su estructura química pueden clasificarse en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas si son estructuras monocíclicas, bicíclicas o tricíclicas.

El grupo de las benzoquinonas tiene escaso interés desde el punto de vista de la fitoterapia aunque si es necesario conocer su importante poder alergizante. Muchas benzoquinonas y algunas naftoquinonas se comportan como haptenos que al combinarse con los grupos amino o tiol de las macromoléculas pueden inducir dermatitis por sensibilización.

Las naftoquinonas, localizadas preferentemente en vegetales superiores, se encuentran en las plantas frescas en forma heterosídica, liberándose la genina durante el proceso de desecación. Pueden presentar actividades farmacológicas de aplicación a la terapéutica como es el caso de la plumbagina de la drosera que parece ser eficaz en el tratamiento de la tos, o la juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) de las hojas y fruto del nogal (*Juglans regia* L., Juglandaceae) que presenta actividad antibacteriana y fungicida. También algunas naftoquinonas pueden ser empleadas en cosmética como colorantes naturales, como ocurre con la lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) también con actividad fungicida, presente en las hojas de alheña o henna

(*Lawsonia inermis* L. Lythraceae) que además de ser un importante fungicida, se fija a los grupos tiólicos de la queratina capilar proporcionándoles un color rojo-anaranjado.

Las antraquinonas son pues quinonas tricíclicas derivadas del antraceno y constituyen el grupo más interesante de quinonas. Pueden llevar funciones hidroxílicas en su estructura en diversas posiciones: si poseen dos grupos OH en las posiciones 1 y 2, tienen propiedades colorantes; si éstos se encuentran en las posiciones 1 y 8, el efecto es laxante. Las antraquinonas con propiedades laxantes estimulantes deben llevar en su estructura además de los dos OH, un radical en el carbono de posición 3 y pueden tener o no, sobre el carbono de posición 6, un radical OH u OCH₃. Generalmente en los vegetales se encuentran en forma heterosídica, es decir unidas a azúcares mayoritariamente a la glucosa, en ocasiones ramnosa y solo ocasionalmente algún azúcar diferente, en unión O-heterosídica (por los OH de las posiciones 1 u 8, a veces 6). Aparecen también C-heterósidos, es decir uniones directas carbono-carbono (C-10), o más de un azúcar sobre la misma molécula en diversas posiciones (a la vez O- y C-heterósido). Pueden encontrarse los derivados antraquinónicos en forma oxidada (antraquinona) o en forma reducida (generalmente se habla de antronas), y ser monómeros o dímeros (diantronas).

Las plantas que contienen estos compuestos son especies vegetales que pueden comportarse como laxantes o como purgantes según las dosis administradas. Las antraquinonas libres en forma reducida son muy irritantes y además, las geninas se eliminan al alcanzar el intestino delgado por lo que se prefiere administrar formas antraquinónicas heterosídicas (O-heterósidos de antraquinonas, C-heterósidos de antronas) o formas dímeras (O-heterósidos de diantronas), que carezcan del carbono metilénico. Posteriormente estas formas se hidrolizan en el intestino grueso y las formas oxidadas se reducen in situ, debiéndose la acción por tanto a las formas libres y reducidas. La acción tiene lugar en el colon, aumentando la motilidad intestinal por acción directa sobre las terminaciones nerviosas y actuando también sobre el movimiento de agua y electrolitos. Diversos ensayos experimentales han permitido dilucidar el mecanismo de acción de estos compuestos. Laxantes estimulantes son aquellos que estimulan el peristaltismo vía irritación de la mucosa o actividad intraneural sobre

el plexo nervioso y como resultado incrementan la motilidad. Pero es sumamente importante igualmente su acción sobre las células de la mucosa del colon: incremento de la estimulación de la secreción de Cl⁻ disminuyendo la absorción de líquido y electrolitos. Se origina por consiguiente un incremento de agua y electrolitos en el lumen colónico lo que da lugar a un aumento de la presión en el intestino y por ello a una acción laxante.

Los derivados hidroxiantracénicos inhiben la actividad Na⁺/K⁺-ATPásica y provocan una disminución de la reabsorción de agua, sodio y cloro, así como un aumento de la secreción de potasio a nivel de la mucosa intestinal. También pueden estar implicados otros mecanismos como son la estimulación de la síntesis de PGE₂, un mecanismo Ca²⁺-dependiente o estimulación de histamina y 5-hidroxitriptamina.

Los compuestos antraquinónicos se utilizan en casos de estreñimiento y cuando es necesaria una evacuación intestinal con heces blandas, debiendo limitarse su uso a periodos cortos de tiempo. Tardan cierto tiempo en actuar, entre 6 y 8-12 horas después de su administración, por lo que se recomienda ésta por la noche para que el efecto tenga lugar a la mañana siguiente.

En general los laxantes antraquinónicos no deben emplearse más que ocasionalmente, nunca en periodos prolongados ya que pueden causar dependencia, atonía intestinal o por el contrario la llamada “enfermedad de los laxantes” con diarreas, dolores abdominales, náuseas, etc. También el uso de estos laxantes puede originar desequilibrios electrolíticos, riesgo de hipokalemia (disminución de la concentración de potasio plasmática). Pueden producirse interacciones con ciertos medicamentos como con los antiarrítmicos tipo quinidina o con los digitálicos. No se deben emplear durante el embarazo o la lactancia, ni tampoco en caso de íleos. No administrar a menores de 12 años, sin control médico.

Flavonoides.

Los flavonoides consumidos por el hombre le protegen del daño de los oxidantes, como los rayos UV (cuya cantidad aumenta en verano); la polución ambiental (minerales tóxicos como el plomo y el mercurio); algunas sustancias químicas presentes en los alimentos (colorantes, conservantes, etc.). Como el organismo humano no

tiene la capacidad de sintetizar estas sustancias químicas, las obtiene enteramente de los alimentos que ingiere.

No son considerados vitaminas.

Al limitar la acción de los radicales libres (que son oxidantes), los flavonoides reducen el riesgo de cáncer, mejoran los síntomas alérgicos y de artritis, aumentan la actividad de la vitamina C, , bloquean la progresión de las cataratas y la degeneración macular, evitan las tufaradas de calor en la menopausia (bochornos) y combaten otros síntomas.

En general el sabor es amargo, llegando incluso a provocar sensaciones de astringencia si la concentración de taninos condensados es muy alta. El sabor puede variar dependiendo de las sustituciones presentadas en el esqueleto llegando incluso a usarse como edulcorantes cientos de veces más dulces que la glucosa.

Sus efectos en los humanos pueden clasificarse en:

Propiedades anticancerosas: muchos han demostrado ser tremendamente eficaces en el tratamiento del cáncer. Se sabe que muchos inhiben el crecimiento de las células cancerosas. Se ha probado contra el cáncer de hígado²⁰

Propiedades cardiotónicas: tienen un efecto tónico sobre el corazón, potenciando el músculo cardíaco y mejorando la circulación. Atribuidas fundamentalmente al flavonoide quercetina aunque aparece en menor intensidad en otros como la genisteína y la luteolina. Los flavonoides disminuyen el riesgo de enfermedades cardíacas.

Fragilidad capilar: mejoran la resistencia de los capilares y favorecen el que éstos no se rompan, por lo que resultan adecuados para prevenir el sangrado. Los flavonoides con mejores resultados en este campo son la hesperidina, la rutina y la quercetina.

Propiedades antitrombóticas: la capacidad de estos componentes para impedir la formación de trombos en los vasos sanguíneos

posibilita una mejor circulación y una prevención de muchas enfermedades cardiovasculares.

Disminución del colesterol: poseen la capacidad de disminuir la concentración de colesterol y de triglicéridos.

Protección del hígado: algunos flavonoides han demostrado disminuir la probabilidad de enfermedades en el hígado. Fue probado en laboratorio que la silimarina protege y regenera el hígado durante la hepatitis. Junto con la apigenina y la quercetina, son muy útiles para eliminar ciertas dolencias digestivas relacionadas con el hígado, como la sensación de plenitud o los vómitos.

Protección del estómago: ciertos flavonoides, como la quercetina, la rutina y el kaempferol, tienen propiedades antiulcéricas al proteger la mucosa gástrica.

Antiinflamatorios y analgésicos: la hesperidina por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, se ha utilizado para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis. Los taninos tienen propiedades astringentes, vasoconstrictoras y antiinflamatorias, pudiéndose utilizar en el tratamiento de las hemorroides.

Antimicrobianos: isoflavonoides, furanocumarinas y estilbenos han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas.

Propiedades antioxidantes: En las plantas los flavonoides actúan como antioxidantes, especialmente las catequinas del té verde. Siendo responsables del efecto preventivo que tiene el consumo sobre las enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras enfermedades degenerativas.

Terpenos.

Actúan como antioxidantes protegiendo los lípidos, la sangre, y demás fluidos corporales del ataque de radicales libres de especies del oxígeno.

Un ejemplo de terpeno es la vitamina A la cual es necesaria para el crecimiento y desarrollo de los huesos, es esencial para el

crecimiento, mantenimiento y reparación de las células de las mucosas, epitelios, piel, visión, uñas, cabello y esmalte de dientes.

Los terpenos más pequeños con solo una unidad de isopreno, poseen 5 carbonos, el hemiterpeno más conocido es el isopreno mismo, un producto volátil que se desprende de los tejidos fotosintéticamente activos.

El sesquiterpeno actúa como compuesto antibiótico en respuesta a la aparición de microbios y como inhibidores de la alimentación de herbívoros oportunistas.

Esteroides.

En los mamíferos, como el ser humano, cumplen importantes funciones:

- Reguladora: Algunos regulan los niveles de sal y la secreción de bilis.
- Estructural: El colesterol es un esteroide que forma parte de la estructura de las membranas de las células junto con los fosfolípidos. Además, a partir del colesterol se sintetizan los demás esteroides.
- Hormonal: Las hormonas esteroides son:
 - Corticoides: glucocorticoides y mineral o corticoides. Existen múltiples fármacos con actividad corticoide, como la prednisona.
 - Hormonas sexuales masculinas: son los andrógenos, como la testosterona y sus derivados, los anabolizantes androgénicos esteroides (AE); estos últimos llamados simplemente esteroides.
 - Hormonas sexuales femeninas.
 - Vitamina D y sus derivados.

Todos ellos son derivados de los esteroides, por ende es de suma importancia en el ser humano.

Función hepática.

Los esteroides anabólicos (EA) pueden provocar efectos adversos profundos sobre el hígado y otros órganos principales. Esto es

particularmente cierto para los EA administrados por vía oral. Los EA administrados por vía parenteral parecen tener efectos menos serios sobre el hígado.

El cipionato de testosterona, el enantato de testosterona y otros anabólicos esteroides inyectables parecen tener pocos efectos adversos sobre el hígado. Sin embargo, se han reportado lesiones hepáticas luego de la administración de nortestosterona por vía parenteral, y también ocasionalmente luego de la inyección de ésteres de testosterona.

La influencia de los AE sobre la función hepática ha sido estudiada ampliamente. La mayoría de los estudios involucran a pacientes hospitalizados quienes son tratados durante períodos prolongados por varias enfermedades, tales como anemia, insuficiencia renal, impotencia, y disfunción de la glándula pituitaria.

En pruebas clínicas, el tratamiento con anabólicos esteroides resultó en una reducción de la función secretora hepática. Además, se observaron colestasis hepáticas, reflejadas por picazón e ictericia, y peliosis hepática.

Anexo 6. Determinación de las pruebas fisicoquímicas.

Determinación de la concentración del ion hidrógeno (pH).

PROCEDIMIENTO.

1. La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
2. Homogeneizarla convenientemente mediante agitación.
3. Comprobar el funcionamiento correcto del potenciómetro utilizando la solución reguladora de pH conocido.
4. Colocar en el vaso de precipitación aproximadamente 10 g o 10 ml de la muestra.
5. Determinar el pH introduciendo el electrodo del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando de este no toque las paredes del recipiente.

Método picnométrico para determinar densidad relativa a 25°C/25°C.

PROCEDIMIENTO.

1. Lavar el picnómetro y llenarlo completamente con agua destilada recién hervida y enfriada hasta 20°C, y taparlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación sumergirlo en el baño de agua a 25°C ± 0,2°C y mantenerlo allí durante 30 min.

2. Remover cuidadosamente cualquier porción de agua que haya exudado el capilar; sacar el picnómetro del baño y secarlo con papel absorbente. Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como m1.

3. Vaciar el picnómetro y enjuagarlo varias veces con alcohol etílico y luego con éter etílico; dejarlo secar completamente y, junto con todas sus partes, pesarlo con aproximación a 0,1 mg, registrar el resultado como m.

4.- llenar el picnómetro completamente con el extracto acuoso de Momórdica charantia, taparlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación sumergirlo en el baño de agua a 25°C ± 0,2°C y mantenerlo allí durante 30 min. ; Sacar el picnómetro del baño y secarlo con papel absorbente. Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como m2.

CÁLCULO

$$d_{25} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Dónde:

d₂₅ = densidad relativa a 25°C/25°C

m = masa del picnómetro vacío en g

m₁ = masa del picnómetro con agua destilada en g

m₂ = masa del picnómetro con muestra en g

Uso de termobalanza para determinar la humedad y sustancia seca.

PROCEDIMIENTO.

1. Soltar el sujetador del plato para muestra, revisándolo para asegurarse de que el plato corre libremente sobre su soporte finamente punteado, y que esté limpio y seco.
2. Ajustar al 0 y 100 %.
3. Determinar 5 g de la muestra pesada en la misma balanza y distribuirla cuidadosamente y uniformemente en el platillo.
4. Con la fuente de potencia debidamente ajustada, bajar la tapa de la balanza. La muestra comenzará a perder humedad y la manecilla se moverá hacia arriba.

Después de pasado un tiempo de 10 a 20 minutos, deberá tomarse la lectura, y si ésta permanece estable durante 2 minutos se registrará como porcentaje total de humedad.

Anexo 7. Método de extracción por Soxhlet.

Preparación de la muestra.

La operación comienza por la preparación de la muestra. Cada sistema de trabajo tiene su manera de preparar la muestra. Con frecuencia debe ser dividida en fragmentos de mayor o menor tamaño.

Cartuchos.

El cartucho consiste en un recipiente cilíndrico con base semiesférica para que apoye perfectamente en la base del equipo extractor y sea además más resistente. Los materiales más utilizados son el algodón prensado y la porcelana porosa. Los cartuchos se llenan hasta la mitad o un poco más y en lo posible no es conveniente comprimir demasiado la muestra para que no se vea impedida la difusión. La cantidad de muestras lo condiciona el tamaño del cartucho y este el del extractor. Es por eso que existen

varios tamaños de soxhlet, y es conveniente antes de comenzar a trabajar definir cuál es la medida que se requiere.

Colocación del solvente.

La cantidad de solvente debe ser la necesaria para que al ascender al cartucho y antes de que se haga la sifonada, no quede seco el balón inferior porque de esa manera, o se seca la muestra y se quema, o cuando caiga el líquido de la sifonada sobre el vidrio recalentado se puede producir una explosión de los vapores con el consiguiente riesgo de accidente. Si la cantidad a agregar no está estipulada en la norma, se carga el solvente desde arriba, lentamente, para que vaya cubriendo el cartucho y luego produzca el rechupe. Esta es la cantidad mínima. Pero como durante la operación hay pérdida del solvente por evaporación, y además debe quedar una cantidad mínima en el balón para que no se concentre el extracto demasiado, hay que agregar por lo menos una cantidad semejante en exceso.

Calentamiento.

Es corriente utilizar calentadores eléctricos de esos llamados múltiples, que además poseen reóstatos para variar el tiempo en el que las resistencias están encendidas. Habitualmente tienen varios puntos. En el primero las resistencias están casi todo el tiempo apagadas y en el último no cortan nunca.

Refrigeración.

La conexión en serie es más práctica, usa menos manguera y requiere de una sola canilla y un solo desagüe. Su única limitación es el aumento de la temperatura del agua de refrigeración a medida que el mismo líquido pasa de un refrigerante al otro, y un defecto es que el sistema queda como un todo y si se saca un equipo hay que acomodar las mangueras de nuevo. En el sistema en paralelo o individual cada equipo tiene su entrada y salida de agua independiente, por lo que se requerirán más canillas y más desagües, aunque se puede instalar un sistema de canilla con varias salidas y un colector de efluentes. El flujo de agua debe regularse para utilizar solamente lo necesario, dado que el consumo es muy alto, particularmente en el caso de que se use agua potable de la canilla.

Operación de extracción.

Una vez que el equipo está armado, abierta el agua el refrigerante, cargado el cartucho con muestra e introducido el solvente, se enciende el calentador y comienza la operación. Llegada la temperatura a la de ebullición del solvente éste comienza a evaporarse y, luego de que calienten las paredes del equipo, comienza a condensar en el refrigerante y a caer en forma de gotas sobre el cartucho. A medida que el condensado va cayendo sobre el cartucho este comienza a escurrir por la parte inferior del mismo llenando el recipiente de extracción hasta que llega al nivel de la bajada del sifón y re chupa, con todo el material disuelto, hacia el balón inferior. El tope del sifón está por encima del cartucho para asegurar que todas las veces el material a extraer quede embebido en el solvente. Una vez que el sistema está en régimen las sifonadas se producen a intervalos regulares. Los tiempos comunes del sifonado están entre 5 y 20 minutos, según la potencia del calentador, el solvente, la temperatura externa, etc.

La cantidad de sifonadas están estipuladas en la norma que se use, pero hay oportunidades en las que se trabaja en sistemas sobre los que no se posee información. Para eso es interesante saber con alguna aproximación el comportamiento general de la extracción. Con ese fin se puede utilizar un equipo de extracción que tiene adosado un robinete en la parte inferior con el que se pueden extraer muestras sin tener que desarmar el equipo.

Anexo 8. Peso de cada individuo.

GRUPO	INICIAL	5 DIAS	10 DIAS	15 DIAS	20 DIAS	25 DIAS	30 DIAS	35 DIAS	40 DIAS
ñ	175 gr	198 gr	210 gr	208 gr	207 gr	216 gr	200 gr	194 gr	216 gr
j	166 gr	181 gr	199 gr	241 gr	260 gr	284 gr	297 gr	313 gr	333 gr
L	170 gr	202 gr	213 gr	225 gr	245 gr	256 gr	265 gr	275 gr	290 gr
O	167 gr	180 gr	198 gr	239 gr	269 gr	288 gr	296 gr	319 gr	333 gr
F	155 gr	165 gr	183 gr	238 gr	247 gr	262 gr	278 gr	297 gr	312 gr
C	156 gr	164 gr	178 gr	216 gr	223 gr	233 gr	245 gr	259 gr	273 gr
e	160 gr	140 gr	+						
n	159 gr	163 gr	+						
m	145 gr	163 gr	183 gr	214 gr	227 gr	214 gr	230 gr	240 gr	252 gr
k	132 gr	159 gr	192 gr	239 gr	262 gr	283 gr	288 gr	292 gr	308 gr
h	144 gr	168 gr	200 gr	265 gr	270 gr	292 gr	312 gr	323 gr	334 gr
i	135 gr	146 gr	188 gr	228 gr	234 gr	260 gr	272 gr	290 gr	301 gr
A	142 gr	164 gr	182 gr	198 gr	176 gr	180 gr	190 gr	211 gr	235 gr
B	143 gr	167 gr	179 gr	208 gr	232 gr	247 gr	255 gr	269 gr	275 gr
G	127 gr	150 gr	170 gr	222 gr	230 gr	254 gr	261 gr	271 gr	284 gr
D	154 gr	175 gr	185 gr	239 gr	254 gr	254 gr	263 gr	277 gr	281 gr

Tabla 3. Peso de los cuatro grupos de ratas por individuo cada 5 días durante 30 días. Grupo Alox + Ext (ñ,j,L,O); grupo Alox + SSI (F,C,e,n); grupo Extracto (m,k,h,i); grupo SSI (A,B,G,D).

Anexo 9. Glucosa de cada individuo.

GRUPO	INICIAL	ALOX 150mg/dl	ALOX 200mg/dl	5 DIAS	10 DIAS	15 DIAS	20 DIAS	25 DIAS	30 DIAS
ñ	Aloxa +	107		500	518	514	499	412	138
	Ext	mg/dl	404 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
J	Aloxa +	100		200	115	108	112	127	110
	Ext	mg/dl	300 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
L	Aloxa +	95		180	111	104	97	103	100
	Ext	mg/dl	191 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
O	Aloxa +	100		120	105		95	137	115
	Ext	mg/dl	130 mg/dl	mg/dl	mg/dl	92 mg/dl	95 mg/dl	mg/dl	mg/dl
F	Aloxa +	100		130	125	100	115	102	158
	SSI	mg/dl	128 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
C	Aloxa +	90		140	138	120	100	115	135
	SSI	mg/dl	130 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
e	Aloxa +	80	+						
	SSI	mg/dl							
n	Aloxa +	100	+						
	SSI	mg/dl	470 mg/dl						
m	Extracto	95		106	106		90	80	84
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	99 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
k	Extracto	94		95	95	79	100	90	91
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
h	Extracto	85		105	105		98	98	83
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	96 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
i	Extracto	97		97	97	93	102	89	75
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
A	SSI	95		87	85	85	100	93	82
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
B	SSI	94		99	104	104	102	87	84
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
G	SSI	90		108	91	91	95	95	85
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
D	SSI	88		111	104	104	104	103	78
		mg/dl		mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl

Tabla 9. Glucosa de los cuatro grupos de ratas por individuo cada 5 días durante 30 días.

XI. BIBLIOGRAFÍA.

1. Medciclopedia – Atlas de plantas medicinales y comestibles – Plantas medicinales –Momórdica charantia; Instituto uí.
2. Gaspar Lavadores Villanueva, “Estudio de 119 plantas medicinales más conocidas en Yucatán, México”. 1969..<http://www.magazinemx.com/bj/salud/herbolaria.php?id=29>.
3. Bash Ethan, Gabardi Steven, Ulbricht Catherine; Bitter melon (Momórdica charantia): A review of efficacy and safety; American journal of Health Pharm; Vol. 60, Febrero 15, 2003.
4. Felix Cheung; Diabetes: A bittersweet treatment – Active compounds found in bitter melon have potential to treat diabetes; Nature – China, 10 Abril 2008 <http://www.florida.plantatlas.usf.edu/Plant.aspx?id=1390>.
5. Wong C.M., Li, W.W.; Yeung, H.W. Insulin-like molecules in Momórdica charantia seeds. Journal ethnopharmacol, 1986, Enero.
6. Katherine Y. Kim Alternative Medicine Encyclopedia: Bitter Melon. <http://www.answers.com/topic/bitter-melon-1a%C3%B1a>.
7. V.S. Baldwin, C.M. Bhandari, A. Pangaria, R.K. Goyal; Clinical trial in patients with diabetes Mellitus of an insulin-like compound obtained from plant source. Uppsala J. Med Sci. Department of Medicine, SMS Medical Collage Hospital (Jaipur, India); Vol.82, pp 39-41. 1977.
8. Esteban Núñez Meléndez. Plantas medicinales de Puerto Rico, Editorial de la Universidad de Puerto Rico, D., Primera edición 1982.
9. Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana. UNAM. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Momordica%20charantia&id=7384#>.
10. Alarcón F. 1980; Antonio N. 1989; Caballero L. 1987; Calatayud A. 1990; Del Amo S. 1979; Garcés A. y cols. 1987; Heinrich M. 1987; Mata S. 1983; Ortiz G. 1987, 1990; Pulido T. 1993; Quintana G. 1986; Romero E. 1984. Botánica. Instituto de Ecología 1991.
11. Antonio N. 1989; Martínez M. A. 1991; Centro de Investigaciones de Quintana Roo, 1991; Centro de Investigaciones

Científicas de Yucatán, 1991; *Index Kewensis*; Instituto de Ecología, 1991.

12. Barbieri L. 1980; Fatope M. O. 1990; Guevara A. P. 1990; Guha J., Sen S. P. 1975; Hara S. 1989; Horejsi V. 1980; Ishikawa T. 1985; Iyer R. I. 1981; Khanna P. 1973; Kikuchi M. 1986; Miyahara Y. 1981; Ng T.B. 1984; Rodríguez D. B. 1976; Sucrow W. 1965, 1966, 1966; Tuntivanich U. 1981; Wong CM. 1986; Zhu Z. J. 1990. Química.

13. Aslam M. 1979; Adesina S. K. 1982; Akhtar M. S. 1981; Bailey C. J. 1985; Biswas A.R. 1991; Chakaraborty T. 1984; Chandrasekar B. 1989; Chatarree K. P. 1964; Day C. 1990; Dixit V. P. 1978; Dubey D. K. 1987; George M. 1949; Guevara A. P. 1990; Jain S. R. 1967; Jamwal K. S. 1962; Jilván C. 1983; Karunanayake E. H. 1984, 1987, 1990; Kedar P. 1982; Khan A. H. 1962; Kulkarni R. D. 1962; Leatherdale B. A. 1981; Maneelrt S. 1978; Meir P. 1985; Ng T. B. 1984, 1986; Praphapraditchote K. 1984; Ram S. 1956; Rivera G. 1942; Singh N. 1989; Srivastava Y. 1987, 1988; Takemoto D. J. 1980; Takemoto D. J. 1982, 1983; Venkanna Babu B. 1988; Vesely D. L. 1977; Welihinda J. 1982, 1986, 1986; West M.E. 1971; Wong CM. 1985; Zhu Z. J. 1990; Principios activos. Lei Q. J. 1985. Farmacología.

14. Khan A. H. 1962; Koentjoro T. 1982; Mokkahasmit M. 1971; Sharma V. N. 1960; Shum L. K. W. 1984; Stepka W. 1974; Yeing H. W. 1984. Toxicidad.

15. García, C. E. L., Rivera, A. G., Chávez, M. D. J. A., May, J. B., Vargas, C. H., & Oliva, V. D. C. D. Cuantificación de flavonoides, taninos y esteroides en plantas medicinales de uso tradicional en Tabasco.

16. García, D. E., Ojeda, F., & Montejo, I. (2012). Evaluación de los principales factores que influyen en la composición Fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). I Análisis cualitativo de metabolitos secundarios. *Pastos y Forrajes*, 26(4).

17. Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o pro oxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*.

18. Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H., & Rocha-Sosa, M. (2004). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Rev Mex Fitopatol*, 21, 355-363.

19. Abbott, D., Andrews, R. S., & Braña, M. F. (1973). *Introducción a la cromatografía*. Alhambra.
20. Dabrio, M. V., Blanch, G. P., & Matas, M. G. (1999). *Cromatografía y electroforesis en columna*. Springer-Verlag Ibérica.
21. Cases, M. V., & Hens, A. G. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. Reverté.
22. Randerath, K., de los Ríos, E. G., & de los Ríos, H. G. (1978). *Cromatografía de capa fina*. Urmo. https://scholar.google.es/scholar?start=10&q=plantas+medicinales+en+mexico&hl=es&lr=lang_es&as_sdt=0,5
23. Owen, T. (2000). *Fundamentos de la espectroscopia UV-visible moderna (conceptos básicos)*. Alemania, Agilent Technologies.
24. Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2001). *Principios de análisis instrumental* (p. 639). Madrid: McGraw-Hill.
25. Willard, H. H., Merritt, L. L., & Dean, J. A. (1991). *Métodos instrumentales de análisis*.
26. Boqué, R. (2005). La selectividad en análisis químico. *Técnicas de Laboratorio*, 299, 878-881.
27. Challenger, A., & Caballero, J. (1998). *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: pasado, presente y futuro*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
28. De Aluja, A. S. (2002). Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gac Med Mex*, 138(3), 295-8.
29. Fernández Hernández, J., & Heuze de Icaza, Y. M. (2007). El programa interno para el cuidado y uso de los animales de laboratorio en las instituciones biomédicas docentes, de investigación científica e industria farmacéutica. *Acta bioética*, 13, 17-24.
30. López-Espinoza, A. N. T. O. N. I. O., & Martínez, H. É. C. T. O. R. (2001). Efectos de dos programas de privación alimentaria sobre el peso corporal de ratas Wistar. *Revista mexicana de análisis de la conducta*, 27, 35-46.

31. Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., & Culebras, J. M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(n06).
32. Mendieta, R. M., & Amo Rodríguez Amo R. (1981). Plantas medicinales del estado de Yucatán (No. 1). Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos.
33. NOM, N. O. M. (1999). 062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación.
34. Winkel-Shirley, B. "Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology". *Plant Physiology* 126: 485-493. 2001.
35. Winkel-Shirley, B. "It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism". *Plant Physiology* 127: 1399-1404. 2001.
36. Flavonoides (isoflavonoides y neoflavonoides). IUPAC Compendium of Chemical Terminology.
37. Martínez-Flórez S., J. González-Gallego, J. M. Culebras y M. J. Tuñón. "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes". *Nutr Hosp* 17: 271-278. 2002.
38. Valencia Ortiz, Ciria. Fundamentos de Fitoquímica. México, Editorial Trillas S.A., p 236, 1995.
39. Lock de Ugaz, Olga. Análisis Fitoquímico y metabolitos secundarios. Universidad católica de Perú.
40. Alejandro Domínguez, Xorge. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limmusa, p 281. México 1985.
41. J. Fessenden, Ralph; Joan S. Fessenden. Química Orgánica. Editorial Panamericana, 2da. Edición.
42. Sheila Grossman; Carol Mattson Porth; Fisiopatología, alteraciones de la salud. Conceptos básicos; Editorial Wolters Klumer Health 2014; p 1303-1332; 9ª. Edición.
43. American Academy of pediatrics; Red Book, Atlas de enfermedades infecciosas en pediatría; p 81-83; Editorial Medica panamericana.

44. Diccionario médico; salud.doctissimo.es
45. T. A Geissman; Principios de química orgánica; p 330-332; 2ª. Edición; Editorial Revertè. 1974.
46. X. Fuentes Arderiu; M. J. Castiñeiras Lacambra; J. M Queralto Compañó; Bioquímica clínica y patología molecular; p 155; Volumen I; Segunda edición; Editorial Reverte S.A.
47. Thomas M. Devlin; Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas; p 679; 4ta Edición; Editorial Revertè S.A.
48. A. Campo Rafael; Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica. Informe técnico No. 245. Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza, Costa Rica 1994. <http://books.google.com.mx/books?id=WBQRAQAIAAJ&pg=PA108&dq=fitoquimica&hl=en&sa=X&ei=MLmnT8vWBUqe2AX5543aCQ&sqi=2#v=onepage&q=fitoquimica&f=false>.
49. www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol6/CVvol6c12.pdf

