
EVALUACIÓN DE LA EFICACIA HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO NATURAL DE ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS (JACKFRUIT) EN RATAS HIPERGLICÉMICAS

EVALUATION OF THE HYPOGLYCEMIC EFFICACY OF
THE ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS (JACKFRUIT) AS
EVALUATED IN HYPERGLYCEMIC RATS

Recepción: 20-03-2019
Aceptado: 24-07-2019

DR. VINICIO ALVARDO ÁLVAREZ
Universidad Internacional de las Américas
San José, Costa Rica

Alvarado, V. (2019). Evaluación de la eficacia hipoglicemiante del extracto natural de *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit) en ratas hiperglicémicas. *Pro Veritatem* 5 (5), pp. 107-129

Resumen

El siguiente estudio consiste en la cuantificación de la eficacia hipoglicemiante del extracto etanólico de *Artocarpus heterophyllus*, mediante un modelo animal, con el fin de revelar condiciones de uso, seguridad y administración. Se utilizaron hojas maduras de la planta y se llevó a cabo una extracción etanólica del material vegetal a una concentración de 44,2 mg/ml y su posterior identificación. Se realizó el ensayo animal en el cual se utilizaron ratas de la cepa Wistar, mediante el modelo de sobrecarga de glucosa; los extractos se evaluaron a dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg posterior a la administración del extracto y se les administró almidón a una dosis de 3 g/kg. Se utilizó glibenclamida, a una dosis de 5 mg/kg, como control positivo y agua destilada, como control negativo. La administración de 250 mg/kg dio resultados estadísticamente significativos, mediante una disminución de la glicemia capaz de desarrollarse como una nueva terapia para la Diabetes.

Palabras clave: Diabetes, eficacia antidiabética, extracto natural, *Artocarpus heterophyllus*.

Abstract

The following study is the quantification of the hypoglycemic efficacy of the natural extract of *Artocarpus heterophyllus*, using an animal model, in order to reveal terms of use, security and administration. Mature leaves of the plant were used and plant material extraction in ethanol was carried out with a concentration of 44,2mg/ml and subsequent identification. Once the identification process, the animal test was carried out, which used rats of the Wistar strain, the process was done using the model of glucose overload, the extracts were evaluated at doses of 250, 500 and 1000 mg/kg. After administration of the extract, starch was administered at a dose of 3 g/kg. Glibenclamide was used at a dose of 5mg/kg as a positive control and distilled water as a negative control. The administration of 250mg/kg produced statistically significant results, through a decrease of glycemia able to develop as a new therapy for Diabetes.

Key words: Diabetes, anti-diabetic efficacy, natural extract, *Artocarpus heterophyllus*

Introducción

Se hace necesaria la prioridad que existe hacia el tratamiento, de acuerdo con los reportes epidemiológicos, a nivel nacional y mundial; asimismo, el abordaje de enfermedades, que afecten en gran medida a las poblaciones y representen las principales causas de aumento de niveles de morbilidad poblacional, en los sistemas de salud nacionales, como la diabetes mellitus.

La Caja Costarricense de Seguro Social, en Costa Rica, ha publicado “*Guía para la atención de personas con Diabetes Mellitus tipo 2, II Edición.*”, vigente desde el 2007, la cual señala que el impacto de este padecimiento, en materia de costo económico y social para el país, para el individuo y su familia, obliga al desarrollo de un proceso de mejoramiento continuo en la calidad de la atención.

Esta enfermedad constituye la causa de estancia más prolongada, junto con la principal causa de diálisis renal, amputaciones no traumáticas, ceguera; También, es la segunda causa de consulta de personas en edad adulta; además, es un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, que representa la primera causa de muerte en el país. (Vásquez et al. 2007, pp. 15-19).

La Organización Mundial de la Salud reporta, en su “*Informe mundial sobre la diabetes*” (2016), una carga mundial estimada en 422 millones de adultos, en todo el mundo, que tenían diabetes, en 2014, frente a los 108 millo-

nes, en 1980. La prevalencia mundial (normalizada por edades) de la diabetes casi se ha duplicado, desde ese año, pues ha pasado del 4,7% al 8,5% en la población adulta. Ello supone un incremento también en los factores de riesgo conexos, como el sobrepeso o la obesidad. (Organización Mundial de la Salud, 2016, párr. 2-4).

Jagtap y Bapat (2010) hizo una revisión al “*Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology*” (Artocarpus: Una revisión de sus usos tradicionales, fitoquímica y farmacología), la cual fue llevada a cabo por el Departamento de Biotecnología de la Universidad de Shivaji, India. Se mostró información exhaustiva de la acción farmacológica, que posee el género *Artocarpus* (Moraceae), la cual comprende aproximadamente 50 especies de árboles de hoja perenne y caducifolios; presenta una cercana relación entre las fuentes tradicionales y modernas para usos etnofarmacológicos en el tratamiento de la inflamación, la fiebre producida por malaria, diarrea, Diabetes Mellitus y la infección por *Taenia solium*.

Señalan también que los extractos poseen gran variedad de compuestos fenólicos, entre los cuales se destacan flavonoides, estilbenoides, aryl-benzofuranos y una lectina vegetal llamada jacalina. Los extractos y metabolitos de *Artocarpus* se obtienen principalmente los de las hojas, corteza, tallos y frutos. Esto indica que esta puede ser utilizada con una gran variedad de fines farmacológicos, gracias a la variedad de compuestos que posee esta especie. (párr. 5-6).

La planta *Artocarpus Heterophyllus* ha sido estudiada de manera muy escasa, en el país, a diferencia de sus estudios en otros países, donde ha determinado una eficacia notable en el tratamiento de enfermedades relacionadas con estados hiperglicémicos. Esto conlleva una obligación, por parte de los investigadores del área, a estudiar la terapia farmacológica de esta planta, en la zona geográfica de Costa Rica.

La investigación “*Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of Witheringia solanacea in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats*” (Efecto hipoglicemiante y antihiper-glicemiante de la *Witheringia solanaceae* en ratas normales y con hiperglicemia inducida por aloxano) es llevada a cabo en el Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica. Esta constituye un modelo animal, en el cual se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, a las que se les administra una carga de glucosa, antes de administrar el extracto de la planta en investigación; luego, se realizan tomas de glucosa a los 30, 60, 90 y 120 minutos, posteriores a la administración del extracto. (Herrera et al. 2010, pp. 907-910).

No hay una solución sencilla para la problemática de la diabetes, sin embargo, la población y los profesionales de la salud tienen la responsabilidad de educarse y asumir un papel, en cuanto a la prevención y tratamiento de esta enfermedad y las complicaciones asociadas.

Por esto, resulta relevante la incorporación de nuevas vías de tratamiento de la diabetes

mellitus, con el fin de lograr una mejoría sustancial de la salud y una expectativa de vida normal en términos de calidad y cantidad de años de vida.

La investigación farmacológica relacionada con la incorporación de nuevos tratamientos, a partir de productos naturales, ha utilizado modelos animales sencillos, con el fin de evaluar su eficacia en el efecto terapéutico deseado, así como condiciones de administración y reacciones adversas.

Por eso, este estudio debe considerar la siguiente interrogante. ¿Cuál es la efectividad de utilizar un modelo animal para validar el procedimiento de elaboración de un producto natural hipoglicemiante a base de *A. heterophyllus*?

La hipótesis establecida en el estudio se orientó a conocer si, la efectividad es significativa, al utilizar un modelo animal para establecer oficialmente el proceso de elaboración de un producto natural a partir de *A. heterophyllus*. Por otro lado, el objetivo general fue validar el procedimiento de extracción de hojas maduras de *A. heterophyllus*, para su eficacia hipoglicemiante, mediante el modelo de sobrecarga de glucosa. Este los objetivos específicos que se plantearon para la investigación se presenta establecer las condiciones especiales de un extracto de *Artocarpus heterophyllus*, con actividad hipoglicemiante, que resulte en un producto natural estable como terapia, describir la eficacia hipoglicemiante del extracto natural de *Artocarpus heterophyllus*, al ser evaluado en ratas

de laboratorio y finalmente comparar los resultados del extracto obtenido, contra la terapia de glibenclamida para la diabetes mellitus.

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica, que aparece cuando las células del páncreas no producen insulina suficiente, o bien, el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La DM es un padecimiento conocido desde hace siglos; sin embargo, el conocimiento de su etiología, historia natural y epidemiología, al final del milenio pasado, estaba aún incompleto. (Altamirano, 2001, pp. 35-37)

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) la clasifica en tres los tipos. La diabetes mellitus tipo 1 (DM1), también llamada insulino dependiente, juvenil o de inicio en la infancia, que suele ser diagnosticada en niños, adolescentes o adultos jóvenes. Puede ser heredable y se caracteriza por una producción deficiente de insulina por las células β -pancreáticas. (National Institutes of Health, 2009, pp. 10-1)

El jackfruit (Moraceae) nativo de la India, poco difundido en otros países y conocida como yaca, jaca o pan de pobre, es un árbol siempre verde considerado entre los de mayor producción de las especies frutales y amplio uso comestible. Se puede consumir cocido o crudo, en estado inmaduro o maduro, respectivamente. (Piña-Damoulín, Quiroz, Ochoa y Magaña-Lemus, 2010, pp. 35-42).

El uso del jackfruit no ha sido del todo substanciado, aunque el uso de varios componentes del árbol, con varios fines en la medicina tradicional (Fernando et al, 1991, citado por Haq, 2006) no se evidenciado, de manera exacta, para cada uno. Sin embargo, han existido varias guías de áreas tropicales, donde su uso se ha llevado por muchos años y en las cuales se encuentran recomendaciones de un rango de usos medicinales.

La información actual sobre su uso como tratamiento medicinal se respalda bastante en algunos de los cribados fitoquímicos llevados a cabo y la pequeña cantidad de pruebas clínicas, que se han llevado a cabo, con el fin de probar su eficacia como alternativa farmacológica segura. (Tirkey et al, 2001, citado por Haq, 2006).

Modelos experimentales con animales de laboratorio

La utilización de animales de laboratorio es una práctica que se ha llevado a cabo durante mucho tiempo y ha ido en paralelo al desarrollo de la biomedicina. *“Se define como animal de laboratorio a todo aquel ser vivo no humano, vertebrado o invertebrado, usado para la experimentación y otros fines científicos”*. (Guillén, 2012, pp. 311-321).

Su utilización se basa principalmente en la analogía fisiológica con la especie humana. Entre los animales utilizados en las investigaciones experimentales se encuentran los primates no humanos, prosimios, gatos, perros,

reptiles, anfibios, ovejas, cerdos, cabras, peces, insectos y roedores. Estos últimos son los de uso más frecuente y, dentro de ellos, las ratas, ratones y conejos. (Romero-Fernández et al, 2016, pp. 288-292).

Cada país debe legislar el correcto cuidado y uso de los animales de experimentación y asegurar que gocen del cuidado alineado con los aspectos éticos. (Fentener et al, 2015, pp. 267-283).

Las normas de la legislación nacional, así como las recomendaciones de organismos y asociaciones internacionales dedicadas a la ciencia de animales de laboratorio, se deben tomar en cuenta, para garantizar que la reglamentación sea la adecuada. (Romero-Fernández et al, 2016, pp. 288-292).

Metodología

Esta investigación se plantea como un estudio con enfoque cuantitativo experimental, descriptivo y exploratorio, debido a su diseño, estructura, variables, técnicas y demás aspectos. Tiene alcance descriptivo, con el fin de especificar parámetros esenciales de acuerdo con la literatura, con el fin someterlos a un análisis, que resulte en una orientación adecuada, para el uso del producto natural en investigación.

Elaboración del producto natural

Obtención del extracto líquido.

El extracto se obtiene a partir de la extracción de hojas maduras de jackfruit, provenientes de la provincia de San José, Costa Rica. Las hojas son autenticadas, como *Artocarpus heterophyllus*, por el botánico Armando Estrada en el Herbario Nacional del Museo Nacional de Costa Rica, en octubre del 2017.

Se realizan tres tipos de extracciones, con el fin de observar con cuál procedimiento se obtiene un extracto con mayor presencia de compuestos farmacológicos naturales. Se lleva a cabo una extracción utilizando, 300ml de agua destilada, como disolvente, por el método Soxhlet, por el cual se deja el equipo en funcionamiento durante 4 horas; luego, se recolecta el extracto y se concentra.

Se lleva a cabo otra extracción utilizando 300 ml de etanol al 80%, como disolvente, por el método Soxhlet, se deja el equipo en funcionamiento durante 4 horas; luego, se recolecta el extracto y se concentra.

Por último, se elabora una extracción en la cual se busca inicialmente eliminar los pigmentos de tipo clorofila y carotenoides de las hojas. Se utiliza un solvente indicado en el procedimiento, descrito por Lallana y Lallana (2003), para el aislamiento de pigmentos en hojas de plantas. Esto tiene el fin de apreciar, de manera óptima, las coloraciones de las pue-

bas reactivas de identificación, una vez obtenido el extracto, mediante el método Soxhlet con 250ml de hexano; se deja funcionar el equipo durante dos horas, posteriormente, se extrae el material vegetal del recipiente Soxhlet y se seca, durante 30 minutos en un horno marca Digisystem Labs, DN-500 a 40°C. Una vez secado el material vegetal se extrae, mediante el método Soxhlet, utilizando 300ml de etanol al 80%, durante 4 horas; luego, se recolecta el extracto y se concentra.

Proceso de Liofilización

Se realiza el proceso de liofilizado del extracto etanólico, obtenido a partir de las hojas de *A. heterophyllus*, en el Instituto Clodomiro Picado de la Universidad de Costa Rica con la colaboración de la MSc. María Herrera y el Dr. Alberto Alape Girón.

Se coloca el extracto en un rotavapor y se comienza a evaporar el solvente etanol, con el fin de concentrar el extracto; evaporada la mayor parte del etanol se coloca el extracto en una cámara de nitrógeno líquido, durante 24 horas.

Una vez congelada la muestra se coloca en un liofilizador marca LABCONCO®, durante 48 horas, a una presión de 3 mili bares.

Identificación de compuestos naturales farmacológicos

Se realiza una serie de pruebas reactivas, para identificar la presencia de compuestos orgánicos responsables de la acción terapéutica

señalada.

Identificación de Taninos

Se lleva a cabo la prueba del dicromato de potasio, adicionando 2 ml de dicromato de potasio a 2 ml del extracto disuelto. La coloración parda amarillenta corresponde a la presencia positiva de taninos. (Inocente et al. 2010. pp 140-141).

Igualmente, se realiza la prueba con acetato de plomo 5%, adicionando 2 ml del reactivo en solución a 2 ml del extracto disuelto. La presencia de un precipitado corresponde a una prueba positiva de taninos. (Inocente et al. 2010. pp 140-141).

Identificación de Saponinas y Esteroles

Se realiza la prueba de Liebermann-Burchard, para la presencia de compuestos saponinas, tomando 2 ml del extracto disuelto y se adicionaron 2 ml de anhídrido acético, 2ml de cloroformo; se enfría a temperaturas cercanas a 0°C y se adicionan 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de una coloración verdosa corresponde a la presencia de saponinas esteroidales. (Valencia et al. 2005. pp 34-35).

Se realiza la prueba de Salkowski, en la cual se adicionan 2 ml de cloroformo, 2ml de ácido sulfúrico a 2 ml del extracto disuelto. La coloración anaranjada corresponde a la presencia positiva de saponinas y esteroles. (Valencia

et al. 2005. pp 34-35).

Identificación de Flavonoides

Se lleva a cabo la prueba de Shinoda, en la cual se trata el extracto disuelto con limaduras de magnesio, se calienta a temperaturas cercanas a 60°C y se adiciona cuidadosamente HCl concentrado, por las paredes del tubo de ensayo. La aparición de coloraciones entre naranja-rojo, rosa-azul o violeta corresponde a la presencia positiva de flavonoides. (Gil, Gómez y Trejos. 2008. pp. 98-99)

Se realiza la prueba de Salkowski, en la cual se adicionan 2 ml de cloroformo, 2 ml de ácido sulfúrico a 2 ml del extracto disuelto, para flavonas y flavonoles. Se reporta la aparición de una coloración amarillenta. (Valencia et al. 2005. pp 34-35).

Se utiliza el extracto etanólico para las siguientes pruebas, incluyendo el ensayo animal, debido a los resultados obtenidos en la identificación de metabolitos secundarios capaces de realizar actividad biológica.

Identificación de β -sitoesterol por espectroscopia de absorción infrarrojo

Se coloca una muestra de 3ml en un equipo speedvec marca Savant™ SPD 1010, facilitado por el Instituto Clodomiro Picado y asesorado por la MSc. María Herrera.

Obtenida la muestra del extracto seco,

se utiliza un espectrofotómetro infrarrojo marca Agilent Technologies, Carry 630-FTIR.

Diseño experimental animal

Prueba sobrecarga de glucosa

Se utilizan grupos de 6 ratas machos, con un peso entre 180 y 220 g, *Rattus Novergicus*, variedad Wistar, obtenidos de la Unidad de Bioterios de la Universidad de Costa Rica.

Se utiliza el modelo de sobrecarga de glucosa, para la determinación del efecto hipoglicémico. Se determina la glicemia de los animales, después de un ayuno de 12 horas (tiempo cero); se les administra el extracto por vía oral y 30 minutos después se administra 3 g/kg de almidón VO y los niveles de glicemia son medidos cada 30 minutos, durante dos horas. Se trabaja con 6 animales por grupo.

El extracto de *Artocarpus Heterophyllus* se evalúa en tres dosis 250, 500 y 1000 mg/kg VO; se utiliza glibenclamida 5 mg/kg VO, como control. La sangre es obtenida de la vena de la cola y los niveles de glicemia se determinan con un glucómetro marca Roche Accu-Chek® Performa, validado por el Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica (ver **Tabla 1**).

Tabla 1. Tratamiento administrado a cada grupo animal

Grupo	Tratamiento
Grupo 1	Extracto 1000mg/kg VO
Grupo 2	Extracto 500mg/kg VO
Grupo 3	Extracto 250mg/kg VO
Grupo 4	Agua VO (1ml)
Grupo 5	Glibenclamida 5mg/kg VO

Resultados

Se calcula, el porcentaje de aumento de glicemia, con los valores de glicemia en cada tiempo y cada animal, con respecto al valor de glicemia en ayuno. La significancia de las diferencias, entre las medias de los grupos experimentales, se determina por medio de análisis de varianza de dos vías de medias repetidas con la prueba de Bonferroni, como estudio post-hoc. Son considerados significativos los valores de p menores a 0.05.

El análisis de comportamiento y rasgos de toxicidad se lleva a cabo utilizando la escala de parámetros de toxicidad de tratamientos vía oral del Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica, la cual está basada en las OECD Test Guidelines.

Obtención de extractos

Extracto acuoso.

Una vez realizado el procedimiento con agua como solvente, se obtiene un extracto de coloración blanca-amarillenta, el cual no presenta precipitados ni formación de grumos, al ser concentrado, y almacenado a 4° C, en un recipiente ámbar de vidrio con tapa.

Extracto etanólico tratado previamente con hexano.

Se lleva a cabo el tratamiento de las hojas con hexano, según lo descrito en la metodología, para obtener como residuo un extracto de coloración verde intenso.

Se obtiene un material vegetal de coloración café-oscura con un aspecto áspero parecido al de hojas secas, al secar las hojas en el horno.

Extracto etanólico sin previo tratamiento.

Se obtiene un extracto de coloración verde oscura con consistencia oscura, olor fuerte, una vez fue evaporado para concentrarlo, con muy escasa formación de grumos los cuales disolvían fácilmente.

Obtención del liofilizado y cuantificación de la concentración del extracto líquido.

Se obtiene un extracto seco de coloración oscura y consistencia resinosa, el cual pesaba 0,221 g, al ser pesado en una balanza analítica. Esto indica que el extracto, del cual fue recolectada la muestra para la liofilización, posee una concentración de 44,2 mg/ml.

Se realiza una serie de diluciones a partir de esta concentración, así como el cálculo para administrar las dosis establecidas a cada grupo de animales de prueba.

Identificación de metabolitos secundarios

Identificación de Taninos.

Se lleva a cabo la prueba con dicromato de potasio y acetato de plomo, al 5%, a los tres extractos para la identificación de la presencia

de taninos.

Se presenta una coloración pardo-amarillenta con pequeñas partículas precipitadas, como prueba positiva, en la reacción con dicromato de potasio en los tres tipos de extractos. Eso se debe a que los taninos forman una coloración roja intensa y formación de leves precipitados al añadir sales de cobre, plomo y estaño y soluciones concentradas de dicromato de potasio (Altamirano. A, 1968) . Sin embargo, hay una coloración y formación de partículas más pronunciada en el extracto etanólico, lo cual puede ser un indicador de mayor concentración de metabolitos secundarios de tipo taninos.

La prueba de acetato de plomo, al 5%, es positiva en los tres extractos, debido a la aparición de un precipitado de coloración clara, en la reacción con extracto etanólico. Se presenta la formación de un precipitado de coloración ligeramente más oscura que los dos extractos restantes, lo cual se debe a la presencia de pigmentos naturales en el extracto.

Se presenta una coloración completamente clara, en el caso del extracto acuoso, consecuente con la baja cantidad de pigmentos naturales en el extracto; asimismo, una coloración intermedia en términos de claridad, en el extracto con baja concentración de pigmentos. Eso se debe a que este presenta una concentración muy leve de pigmentos naturales por su previo tratamiento con hexano.

Identificación de Saponinas.

Se presenta la presencia de pruebas negativas, en el caso del extracto acuoso. Sin embargo, los resultados, en el caso del extracto etanólico, son positivos en las pruebas realizadas, dando como solución la presencia positiva de saponinas esteroidales.

Se presenta una prueba positiva con coloración verde en la prueba de Liebermann-Burchard, en el caso del extracto tratado previamente con hexano para la eliminación de pigmentos. Sin embargo, hay una coloración verdosa no muy intensa, en el caso de la prueba de Salkowski.

Shanmugapriya, Saravana, Payal, Mohammed y Bennai (2011. pp. 2587-2589), indican que el análisis fitoquímico de varias partes de la planta de *A. Heterophyllus*, utilizando solventes acuosos, etanólico, etil acetato y en acetona de muestras vegetales, provenientes de la India, demostraron que los extractos acuosos y etanólicos poseen presencia de metabolitos secundarios saponificables.

No obstante, la fracción etanólica del extracto obtenido demuestra una mayor concentración de estos compuestos, en comparación con la fracción acuosa, mediante análisis fotoquímicos previamente validados. Esto justifica los resultados negativos en el extracto acuoso para las pruebas de Liebermann-Burchard y Salkowski.

Identificación de Flavonoides.

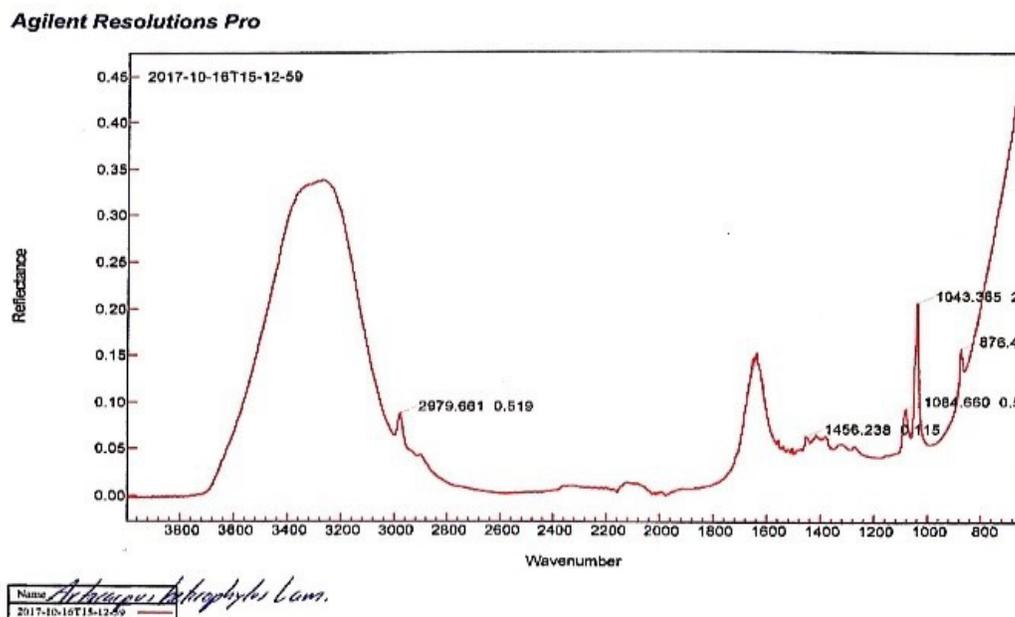
Se producen coloraciones distintas, para los tres casos, en las pruebas de identificación de flavonoides. Se presentan coloraciones en los casos del extracto acuoso, y el extracto tratado previamente con hexano, las cuales no están reportadas para ningún tipo de compuesto de tipo flavonoide. Sin embargo, el etanólico presenta una coloración amarillenta ocre, para el extracto, la cual es un indicador de presencia de varios tipos de flavonoides.

Identificación por espectrofotometría infrarrojo.

Se coloca la muestra etanólica, tratada previamente con la ayuda del speedvec, la cual queda al fondo del vial una pastilla húmeda de extracto crudo y se coloca una pequeña muestra en el infrarrojo, con ayuda de una espátula.

Se comparan los picos significativos con los reportados en la literatura para el β -sitosterol, lo cual corresponde a un esteroide similar al colesterol, en *A. Heterophyllus*, según Gupta, Kumar, Mishra y Prakash. (2010)

Figura 1. Espectro IR A. Heterophyllus.



Se comprueba una alta semejanza en los valores reportados con los obtenidos por Kamboj y Kumar (2011, p. 95), al comparar los resultados obtenidos con las bandas de absorción reportadas para el aislamiento del beta-sitosterol. Sin embargo, son necesarios futuros métodos de análisis para establecer la presencia del compuesto beta-sitosterol, en el extracto natural obtenido de *A. heterophyllus*.

Tabla 2. Comparación de valores obtenidos por IR

Estructura	Valor obtenido (cm ⁻¹)	Valor de referencia (cm ⁻¹)
O-H	3200-3400	3373
C-H alifático	2979 y 2890	2940 y 2867
C=C	1645	1641
(CH ₂) _n cíclico	1456	1457
-CH ₂ (CH ₃) ₂	1390	1381
Cicloalcano	1043	1038
C-H insaturación	876	881
C-O	1084	1050-1150

Ensayo animal

Tabla 3. Valores de glicemia obtenidos para el tratamiento con agua VO

Agua VO (mg/dl)					
	0	40	70	100	130
1	75	136	148	182	159
2	81	150	127	132	133
3	78	136	167	132	114
4	89	150	161	170	172
5	92	162	147	144	132

% Aumento					
0	40	70	100	130	
100,00	181,33	197,33	242,67	212,00	
100,00	185,19	156,79	162,96	164,20	
100,00	174,36	214,10	169,23	146,15	
100,00	168,54	180,90	191,01	193,26	
100,00	176,09	159,78	156,52	143,48	
100,00	177,10	181,78	184,48	171,82	
0,00	6,42	24,47	35,02	29,98	

Se analizan solamente los resultados de 5 animales, obtenidos en tratamiento con agua VO, debido a que un animal falleció durante el ensayo.

Tabla 4. Valores de glicemia obtenidos para el tratamiento con glibenclamida

Glibenclamida 5 mg/kg (mg/dl)					
	0	40	70	100	130
1	90	89	76	88	71
2	69	88	94	72	56
3	106	116	110	93	88
4	69	89	77	61	69
5	65	82	73	77	52
6	78	92	98	62	72

% Aumento					
0	40	70	100	130	
100,00	98,89	84,44	97,78	78,89	
100,00	127,54	136,23	104,35	81,16	
100,00	109,43	103,77	87,74	83,02	
100,00	128,99	111,59	88,41	100,00	
100,00	126,15	112,31	118,46	80,00	
100,00	117,95	125,64	79,49	92,31	
100,00	118,16	112,33	96,04	85,90	
0,00	11,97	17,89	13,97	8,42	

Tabla 5. Valores de glicemia obtenidos del tratamiento con extracto a 250 mg/kg

Extracto D2 (250 mg/kg)					
	0	40	70	100	130
1	77	170	167	152	125
2	95	150	131	128	118
3	92	168	159	141	133
4	75	160	145	139	129
5	84	161	162	156	129
6	67	155	151	151	120

% Aumento				
0	40	70	100	130
100,00	220,78	216,88	197,40	162,34
100,00	157,89	137,89	134,74	124,21
100,00	182,61	172,83	153,26	144,57
100,00	213,33	193,33	185,33	172,00
100,00	191,67	192,86	185,71	153,57
100,00	231,34	225,37	225,37	179,10
100,00	195,37	184,46	176,88	154,69
0,00	27,33	31,63	32,21	19,89

Tabla 6. Valores de glicemia obtenidos del tratamiento con extracto a 500 mg/kg

Extracto 500 mg/kg					
	0	40	70	100	130
1	88	137	130	130	122
2	87	155	66	108	79
3	78	156	127	107	127
4	96	163	132	122	143
5	89	154	160	155	145
6	84	150	139	117	135

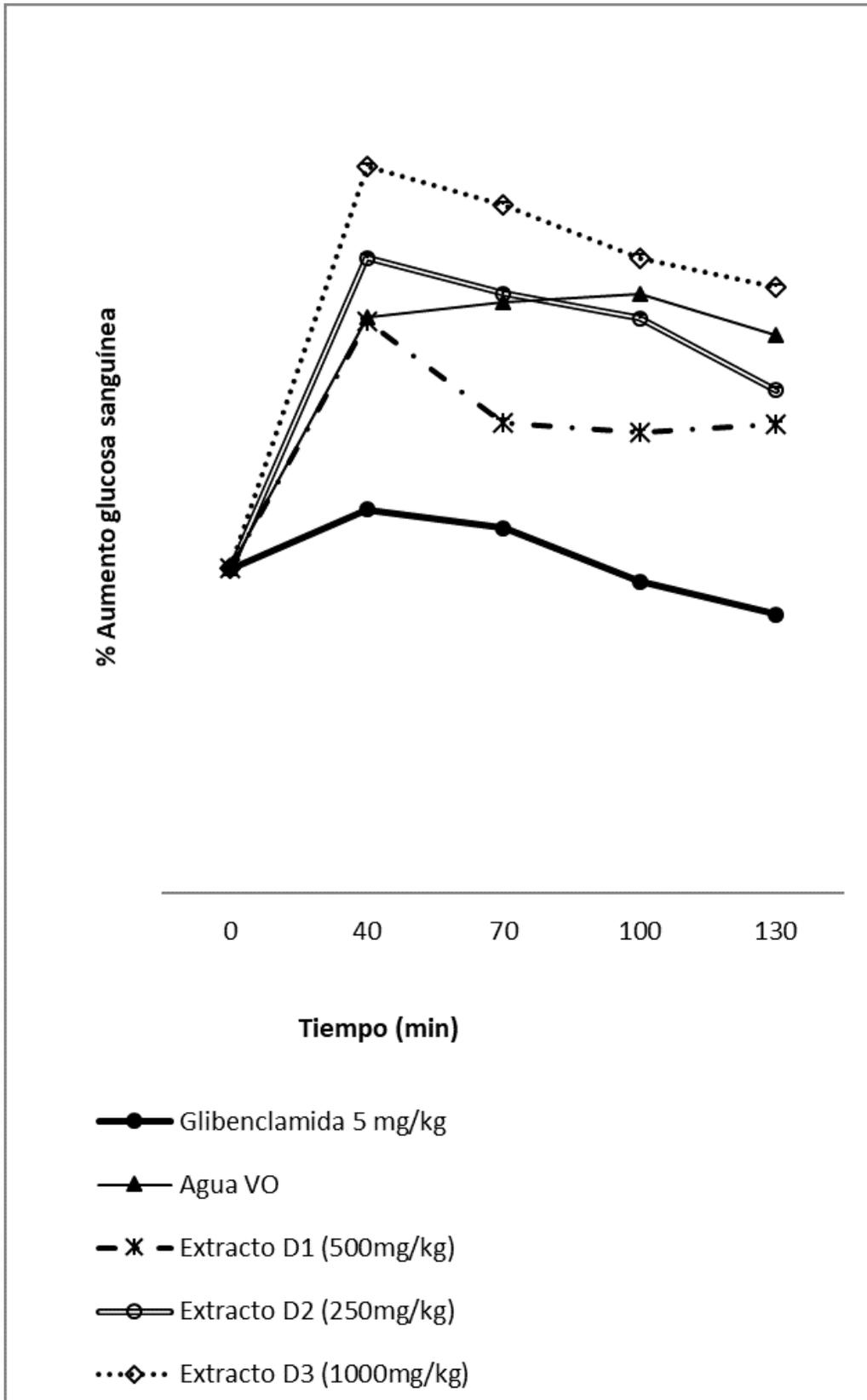
% Aumento				
0	40	70	100	130
100,00	155,68	147,73	147,73	138,64
100,00	178,16	75,86	124,14	90,80
100,00	200,00	162,82	137,18	162,82
100,00	169,79	137,50	127,08	148,96
100,00	173,03	179,78	174,16	162,92
100,00	178,57	165,48	139,29	160,71
100,00	175,87	144,86	141,60	144,14
0,00	14,47	36,85	18,10	27,84

Tabla 7. Valores de glicemia obtenidos del tratamiento con extracto a 1000mg/kg

Extracto D3 (1000 mg/kg)					
	0	40	70	100	130
1	86	155	144	128	122
2	75	170	148	150	165
3	73	188	160	118	113
4	65	172	167	158	147
5	67	151	168	167	141
6	86	160	153	146	142

% Aumento				
0	40	70	100	130
100,00	180,23	167,44	148,84	141,86
100,00	226,67	197,33	200,00	220,00
100,00	257,53	219,18	161,64	154,79
100,00	264,62	256,92	243,08	226,15
100,00	225,37	250,75	249,25	210,45
100,00	186,05	177,91	169,77	165,12
100,00	223,41	211,59	195,43	186,40
0,00	35,03	37,24	42,80	36,67

Figura 2. Porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo



Discusión

Los valores de glicemia están bastante altos, en el caso de la administración de agua vía oral, como control negativo, debido a la carga de almidón administrada a los animales, y hay disminuciones en la recta de porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo hasta tiempos de 130 minutos.

Esto se debe a los mecanismos fisiológicos normales de captación de glucosa, por parte de la insulina, los cuales otorgan un control negativo. Cualquier diferencia estadísticamente significativa, a partir de este comportamiento, se considera como la presencia de bioactividad, por parte de la sustancia utilizada.

La gráfica de porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo evidencia que la recta se mantiene en valores bajos, en todos los tiempos, para el caso de la administración de glibenclamida. Se obtienen valores significativos de $P < 0.05$ en todos los tiempos menos el tiempo 0. Esto se justifica porque es un medicamento altamente comercializado, para su uso en pacientes diabéticos, sin embargo, estos resultados otorgan un control positivo al ensayo realizado.

El porcentaje de aumento de glicemia no tiene valores significativos, en el caso de la administración del extracto, a dosis de 250 mg/kg. Sin embargo, el comportamiento de la recta en la gráfica de porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo, evidencia que la recta disminuye en tiempos, en los que el control negativo no lo

hace.

Además, esta es decreciente, en todo momento a partir de los 40 min, lo cual indica que sí se presenta una actividad biológica, por parte del extracto a esta dosis. No obstante, el efecto no tiene tal magnitud de manera que arroje valores estadísticamente significativos, para ser catalogado como una actividad biológica notable. Por esto, el extracto no tiene un efecto terapéuticamente válido para esta dosis.

Los mejores resultados son en la administración del extracto a los animales, en dosis de 500 mg/kg. El extracto de *A. heterophyllum*, para esta dosis, tiene una inhibición del aumento de glicemia específico, a tiempos de 70 y 100 minutos. Esto implica una disminución de casi el 40% de la glucosa en sangre, con respecto al valor del control negativo. Eso establece que el extracto sí posee un efecto terapéuticamente significativo a dosis de 500 mg/kg. La gráfica de porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo muestra que la recta decrece a partir de los 40 minutos y se mantiene en valores estables de glucosa en sangre, hasta los 130 minutos, lo cual es un indicativo de que el extracto, a esta dosis, posee capacidades de mantener niveles estables de glucosa en sangre.

No obstante, es necesario llevar a cabo un ensayo para aseverar esta afirmación como un uso oficial del extracto, en el que la metodología permita analizar el comportamiento de la glicemia, una vez administrado el extracto, por un tiempo más prolongado, con el fin de evidenciar que el comportamiento de esta recta se

mantendrá en niveles estables de glicemia, independientemente de mecanismos fisiológicos habituales de metabolismo de glucosa.

El gráfico de porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo, para el caso de la administración del extracto, en dosis de 1000 mg/kg, muestra que hubo inicialmente un incremento significativo en los niveles de glucosa en sangre, a los 40 minutos. Esto se puede deber a la cantidad de azúcares naturales, que pueden contener usualmente este tipo de extractos, los cuales causan un pico de glicemia al administrarse simultáneamente la carga de almidón.

Sin embargo, la recta, después de este tiempo, posee un comportamiento decreciente, aunque no muy significativo. Esto se puede deber a que la cantidad de glucosa administrada entre el extracto y el almidón sobrepasan esta cantidad aunque el extracto igualmente posee actividad biológica hipoglicemiante. Por esto, se establece que el extracto, a esta dosis, ya no posee una actividad terapéuticamente significativa.

No se obtuvieron valores estadísticamente importantes, en el análisis de la administración del extracto a dosis de 1000 mg/kg, los cuales indiquen que existe un efecto terapéutico viable con esta dosis. Se presentan, más bien, valores de diferencia significativa, pero hacia el aumento de glicemia, aumentando la cantidad de glucosa en sangre, casi en un 45%, a los 40 minutos.

Estos resultados permiten comprobar la actividad biológica hipoglicemiante dosis-dependiente, que posee el extracto hidroalcohólico de hojas maduras de *A. heterophyllus*, en dosis de 500 mg/kg. Sin embargo, el mecanismo de acción responsable de esta actividad aún permanece desconocido.

Esta planta posee componentes que han demostrado una acción inhibitoria sobre la enzima α -amilasa de acuerdo con lo obtenido por Kotowaroo et al. (2006). De manera que se utilizó almidón para este ensayo, con el fin de verificar si el extracto posee componentes, que actúen sobre las enzimas encargadas de degradar los azúcares, a nivel gastrointestinal, tales como la α -amilasa y α -glucosidasa. De esta forma, no habría degradación del almidón en glucosa, al inhibir las enzimas y no se daría absorción completa de carbohidratos, como consecuencia, lo que evita un aumento de la glicemia.

Sin embargo, los resultados obtenidos y discutidos evidencian que el extracto comienza su acción biológica, a partir de los 40 min en todos los casos. Las rectas del gráfico de porcentaje de aumento de glicemia vs tiempo, muestra un pico de glucosa en sangre, a los 40 minutos. Esto indica que el almidón sí se degrada y los carbohidratos son absorbidos, a nivel gastrointestinal. Por consiguiente, se descarta este mecanismo de acción como el responsable de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de hojas de *A. Heterophyllus*.

Esto deja varias opciones, como posibles mecanismos de acción del extracto, que requieren futuras investigaciones para definir cuál o cuáles son los responsables de causar el efecto hipoglicemiante. Entre ellos se pueden encontrar aumento de la captación de glucosa libre en sangre; aumento en la liberación de insulina, por parte de las células pancreáticas y aumento del efecto incretina o una disminución de la reabsorción de glucosa. También, existe la posibilidad de que el mecanismo de acción no se relacione con ninguno de los reportados, como tratamiento convencional de la diabetes, sino que sea un mecanismo de acción completamente distinto.

Se concluye que existe una excelente efectividad en utilizar un modelo animal, para obtener resultados confiables, mediante los cuales se logra validar el procedimiento de elaboración de un producto natural hipoglucemiante a base de *A. heterophyllus*.

Esto se evidencia después de realizada la correcta validación de los procesos de recolección, preparación de la muestra vegetal, método de extracción de los componentes activos, identificación y cuantificación de la presencia de metabolitos secundarios y la bioactividad, que posee el extracto vegetal que se obtuvo bajo los parámetros establecidos.

Las condiciones bajo las cuales se realiza esta investigación se ultiman como procedimientos, en los cuales el extracto obtenido posee estabilidad y principalmente actividad biológica. Esta le brinda una gran capacidad como

objetivo de futuras investigaciones, con el fin de refinar el método y continuar con el proceso oficial de elaboración de un producto natural, el cual constituya una terapia farmacológica alternativa para personas diabéticas, prediabéticas y no diabéticas.

Sin embargo, el producto requiere procesos de registro sanitario, para que se considere como una terapia oficial, lo cual no se realiza en este proyecto.

Por consiguiente, se puede continuar, a partir de este proyecto, con la investigación al punto de definir el método para realizar una formulación completa, la cual culmine con una forma farmacéutica oficial capaz de ser registrada como terapia antidiabética efectiva.

Referencias

- Altamirano. A., (1968). Caracterización fitoquímica y evaluación del contenido de pro-vitamina A y vitamina C en diez líneas promisorias de Oca y Zanahoria Blanca. Universidad Central del Ecuador. Recuperado de https://books.google.co.cr/books?id=EIEzAQAAMAA-J&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Badilla, S., Binns, F., García, P., Herrera, C. y Vargas, M. (2010). Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Witheringia solanacea* in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats. Universidad de Costa Rica. Journal of Ethnopharmacology. 133 (2). 908-909. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.003
- Fentener van Vlissingen JM, Borrens M, Girod A, Lelovas P, Morrison F, Torres YS. (2015). The reporting of clinical signs in laboratory animals: FELASA Working Group Report. Lab Anim. 49 (4) 267-83. doi: 10.1177/0023677215584249.
- Organización mundial de la salud (2016). Informe mundial sobre la diabetes. Recuperado de https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204877/WHO_NMH_NVI_16.3_spa.pdf;jsessionid=F6F5082E890AC45C280C687EE9D55C97?sequence=1
- Gil, R., Gómez, B. y Trejos, S. (2008). Citotoxicidad y actividad anticancerígena de dos Flavonoides aislados y purificados de *Brownea ariza*. Vitae, Revista de la facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Colombia. 16 (1). 98-99
- Guillen J. (2012). FELASA guidelines and recommendations. J Am Assoc Lab Anim Sci, 52 (3) 311-321. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358979/>
- Gupta, R., Kumar, R., Mishra, A. y Prakash, O. (2010). Artocarpus heterophyllus (Jackfruit): An overview. Phcog Rev., 3 (6) 353-358.
- Haq N. (2006) Jackfruit: Artocarpus heterophyllus, South Hampton Centre for Under Utilised Crops, University of South Hampton, UK. 22-24
- Inocente et al. (2010). Cuantificación de taninos en *Triplaris Americana l*. Rev Soc Química de Perú 76 (2), 140-141.

- Jagtap U. y Bapat V. (2010). Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Departamento de Biotecnología de la Universidad de Shivaji, India. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874110002060>
- Kamboj, A. y Kumar, A. (2011). Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum Conyzoides*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 03 (1) 95. R
- Kotowaroo, M. et al. (2006). Screening of traditional antidiabetic medicinal plants of Mauritius for possible α -amylase inhibitory effects in vitro. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.1839/full>
- Lallana, M. y Lallana, V. (2003). Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal. Edición Digital. Recuperado de http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/fisiologiaveg/m_didactico/manual_practicas/ExtPig_bED.pdf
- National Institutes of Health. (2009). Tres tipos de diabetes. NIH Medline Plus. Winter/Invierno 2009. Recuperado de https://magazine.medlineplus.gov/pdf/Salud_Winter_09.pdf
- Piña-Dumoulin G., Quiroz ,J., Ochoa ,A. y Magaña-Lemus S (2010) Caracterización físico-química de frutas frescas de cultivos no tradicionales en Venezuela I. La Yaca. Agron. 60 (3), 35-42.
- Romero-Fernández, W. et al (2016). El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. 33 (2), 288-292. doi: 10.17843/rpmesp.2016. 332.2169
- Shanmugapriya, K., Saravana, P., Payal, H., Mohammed, P y Bennai W. (2011). A comparative study of antimicrobial potential and phytochemical analysis of *Artocarpus heterophyllus* and *Manilkara zapota* seed extracts. Journal of Pharmacy Research, India, 4 (8), 2587-2589.
- Valencia et al. (2005). Extracción, identificación y evaluación de Saponinas en *Agaricus bisporus*. Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas.5 (31-36), 34-35.
- Vásquez , R., et al. (2007). Guía para la atención de personas diabéticas. Dirección de desarrollo de servicios de salud, Caja Costarricense de Seguro Social. 15-19.