

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA La Universidad Católica de Loja

ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

"Determinación de la actividad antidiabética de los extractos totales de nueve especies vegetales nativas del Sur del Ecuador: Piper crassinervium (Guabiduca), **Baccharis** genistelloides (Tres filos), Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca), Siparuna eggersii (Monte de oso), llex guayusa (Guayusa), Croton wagneri (Mosquera), Costus comosus (Caña agria), Verbena litoralis (Verbena) y Oreocallis grandiflora (Cucharillo) mediante ensayos de inhibición de alfa amilasa y alfa glucosidasa"

> Tesis de grado previa a la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico

Verónica Alexandra Sarango Solano AUTOR Ing. Ximena Verónica Jaramillo Fierro DIRECTORA

> LOJA – ECUADOR 2008

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Ing. Ximena Verónica Jaramillo Fierro DIRECTORA DE TESIS

Certifica:

Que el trabajo de Investigación "Determinación de la actividad antidiabética de los extractos totales de nueve especies vegetales nativas del sur del Ecuador: Piper crassinervium (Guabiduca), Baccharis genistelloides (Tres filos), Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca), Siparuma eggersii (Monte de oso), Ilex guayusa (Guayusa), Crotón wagneri (Mosquera), Costus comosus (Caña agria), Verbena litorales (Verbena) y Oreocallis grandiflora (Cucharillo), mediante ensayos de inhibición de α-amilasa y α-glucosidasa" elaborado por la egresada Verónica Alexandra Sarango Solano ha sido revisado y se ajusta a los requisitos legales exigidos por la Escuela de Bioquímica y Farmacia por lo tanto autorizo su presentación.

Ing. Ximena Verónica Jaramillo Fierro DIRECTORA DE TESIS

Loja, Febrero 2009

AUTORIA

Las ideas y resultados vertidos en el presente trabajo de investigación son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Verónica Alexandra Sarango Solano

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico de manera especial a mis Padres, hermanos, sobrinos, primos, a toda mi familia y amigos quienes me apoyaron y me impulsaron a continuar con paciencia en la realización de este trabajo de investigación.

Verónica

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y la capacidad de seguir adelante.

A mis Padres, hermanos, a toda mi familia por ser el pilar fundamental en mi vida.

A mis sobrinos Stalin, David, Joseph, Andy, Roxana, María Ángel, Fausto José y Tania Valentina.

A la Universidad Técnica Particular de Loja y a todos mis profesores por haberme dado la oportunidad de prepararme y terminar mi carrera profesional.

A mi directora de tesis Ing. Ximena Jaramillo por haber sido la persona que siempre estuvo a mi lado en todos los momentos.

A todos los docentes y miembros del Instituto de Química Aplicada de manera especial al Ing. Vladimir Morocho a los Bqs: Santiago Ojeda y Luís Cartuche, a mi compañera Ximena Abad por haberme dado todo el apoyo en la realización de mi trabajo.

A todos mis compañeros con quienes compartí mi vida estudiantil.

CESION DE DERECHOS

Yo, Verónica Alexandra Sarango Solano "declaro autora del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos 0 acciones legales. Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y de tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad"

 • • • •

Verónica Sarango **TESISTA**

Ing. Ximena Jaramillo DIRECTORA DE TESIS

CONTENIDOS

Certifi	cación		I
Autori	ía		II
Dedic	atoria.		Ш
Agrad	lecimie	nto	IV
Cesió	n de de	erechos	V
Conte	nidos.		VI
Resur	men		XII
Abstra	act		XIV
CAPI	TULO I		
1.	OBJE	ETIVOS	1
	1.1	Objetivo General	1
	1.2	Objetivos Específicos	1
	1.3	Fin del proyecto	2
	1.4	Propósito del proyecto	2
	1.5	Componentes del proyecto	3
	1.6	Hipótesis de trabajo	3

	1.7	Diser	no experimental	3
CAI	PITULO) II		
2.	INTR	ODUCCI	ÓN	5
	2.1	Diabete	es Mellitus	5
	2.2	Tratam	iento (DM)	8
	2.3	Mecani principi proveni		S
	2.4	Inhibici glucosi	ón de α-amilasa y α- dasa	ç
	2.5	Especi	es vegetales	10
		2.5.1	Piper crassinervium	12
		2.5.2	Baccharis genistelloides	13
		2.5.3	Neonelsonia acuminata	14
		2.5.4	Siparuna eggersii	15
		2.5.5	llex guayusa	16
		2.5.6	Croton wagneri	17
		2.5.7	Costus comosus	18
		2.5.8	Verbena litoralis	19

CAPITULO III				
3.	MATE	RIALES Y MÉTODOS	21	
	3.1	Área de recolección	21	
	3.2	Obtención de extractos	23	
	3.3	Curva estándar	23	
	3.4	Ensayos espectrofotométricos sobre α-amilasa	23	
		3.4.1 Principio	23	
		3.4.2 Condiciones	23	
		3.4.3 Procedimiento	24	
	3.5	Ensayos espectrofotométricos sobre α-glucosidasa	25	
		3.5.1 Principio	25	
		3.5.2 Condiciones	25	
		3.5.3 Procedimiento	25	
	3.6	Cálculo del Cl ₅₀ para los ensayos espectototométricos de inhibición de α-amilasa y α-glucosidasa.	27	

Oreocallis grandiflora..... 20

2.5.9

CAPITULO IV

4	RESU	JLTADOS	28
	4.1	Ensayo espectrofotométrico de inhibición de α-amilasa	28
	4.2	Ensayo espectrofotométrico de inhibición de α-glucosidasa	29
	CAP	PITULO V	
5.	DISC	CUSIÓN DE RESULTADOS	32
	5.1	Ensayo espectrofotométrico de inhibición de α-amilasa y α-glucosidasa	32
CA	PITUL	O VI	
6.	CON	ICLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
	6.1	Conclusiones	34
	6.2	Recomendaciones	34

7. REFE	RENCIA BIBLIOGRAFICA	36
INDICE DE	FIGURAS	
Figura 1	Fotografía de <i>Piper crassinervium</i> , tomada en el cantón Chaguarpamba Provincia de Loja	12
Figura 2	Fotografía de <i>Baccharis genistelloides</i> , tomada en en el Barrio Jipiro Alto Provincia de Loja	13
Figura 3	Fotografía de <i>Neonelsonia acuminata</i> tomada del Herbario de la Plantas de Productos Naturales. UTPL	14
Figura 4	Fotografía de <i>Siparuna eggersii</i> tomada del Herbario de la Plantas de Productos Naturales. UTPL	15
Figura 5	Fotografía de <i>Ilex guayusa</i> , tomada en la Parroquia Malacatos Provincia de Loja	16
Figura6.	Fotografía de <i>Croton wagneri</i> , tomada en el Cantón Catamayo Provincia de Loja	17
Figura7.	Fotografía de <i>Costus comosus</i> , tomada vía Jamboe Bajo Provincia de Zamora Chimchipe	18
Figura8.	Fotografía de <i>Verbena litoralis</i> , tomada en el Cantón Sozoranga Provincia de Loja	19
Figura9.	Fotografía de <i>Oreocallis grandiflora</i> , tomada en el Villonaco Provincia de Loja	20

riguia.10	las nueve especies vegetales de las provincias de Loja y Zamora Chinchipe	22
INDICE D	E TABLAS	
Tabla 1.	Diseño simple al azar	4
Tabla 2.	Lugares de recolección de las especies vegetales	21
Tabla 3.	Esquema para la determinación de la actividad inhibitoria de α-amilasa	24
Tabla 4.	Esquema para la determinación de la actividad inhibitoria de α-glucosidasa	25
Tabla 5.	% de Inhibición de los nueves extractos metanólicos y del control positivo acarbosa frente a α-amilasa y sus respectivos valores de CI ₅₀	29
Tabla 6.	% de Inhibición de los nueves extractos metanólicos y del control positivo acarbosa frente a α-glucosidasa y sus respectivos valores de Cl ₅₀	29
Tabla 7.	% de Inhibición del extracto metanólico <i>Oreocallis gradiflora</i> (Cucharillo) y del control positivo acarbosa frente a α- glucosidasa y sus respectivos valores de CI ₅₀	31

RESUMEN

El objeto del presente estudio fue evaluar la actividad inhibitoria, sobre α-amilasa glucosidasa, de los extractos totales de nueve especies vegetales del Sur del Ecuador: Piper crassinervium (Guabiduca) perteneciente a la familia PIPERACEAE, Baccharis genistelloides familia ASTERACEAE, (Tres filos) de la Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca) de la familia APIACEAE, Siparuma eggersii (Monte de oso) de la familia MONIMIACEAE, Ilex guayusa (Guayusa) de la familia AQUIFOLIACEAE, Croton wagneri (Mosquera) la familia de EUPHORBIACEAE, Costus comosus (Caña agria) de la familia COSTACEAE, Verbena litorales (Verbena) de la familia VERBENACEAE y Oreocallis grandiflora (Cucharillo) de la familia PROTEACEAE; empleando los espectrofotométricos descritos por Takahiro para α -amilasa [1] y por Matsui para α -glucosidasa [2]. Las especies vegetales fueron recolectadas en diferentes localidades de la Ciudad y Provincia de Loja y de la Provincia de Zamora Chinchipe.

Para la evaluación espectrofotométrica del efecto hipoglucemiante, los extractos y el control positivo acarbosa fueron preparados en cinco concentraciones (10, 50, 100, 500 y 1000 ug/ml) y los resultados fueron expresados como CI₅₀ es decir la concentración que inhibe el 50% de la actividad enzimática total (ug/ml).

El mayor efecto inhibitorio sobre α -amilasa fue encontrado para la especie $Oreocallis\ grandiflora$ (Cucharillo) con un Cl_{50} de 161 ug/ml, las otras ocho especies no tuvieron ningún tipo de actividad frente a esta enzima. Contrariamente, las nueve especies mostraron actividad inhibitoria sobre α -glucosidasa superior a la del control positivo, siendo $Oreocallis\ grandiflora$ la especie que presentó la mejor actividad por lo que tuvo que ser diluida 10 veces a fin de establecer su Cl_{50} en 3 ug/ml.

Palabras claves: α -amilasa, α -glucosidasa, diabetes, plantas medicinales.

ABSTRACT

The main goal of this study was evaluated the inhibitory activity about α-amylase and alucosidase of the crude extract from nine vegetable species of the souther of Ecuador: Piper crassinervium (Guabiduca) PIPERACEAE's family, Baccharis genistelloides (Tres Filos) ASTERACEAE's family, Neonelsonia acuminata APIACEAE's (Zanahoria blanca) family, Siparuma eggersii (Monte de oso) MONIMIACEAE's family, *llex quayusa* (Guayusa) AQUIFOLIACEAE's family, Croton (Mosquera) EUPHORBIACEAE's family, Costus comosus (Caña agria) COSTACEAE's family, Verbena Litorales (Verbena) VERBENACEAE's family and Oreocallis grandiflora (Cucharillo) PROTEACEAE's family; bγ using espectrophotometrics methods mentioned by Takihiro to α -amylase [1] and by Matsui to α glucosidase [2]. The vegetable species were collected in different places of Loja and Zamora Chinchipe Provinces.

To the espectrofphotometric evaluation of the hipoglucemiant effect, the extracts and the positive control acarbose were prepared in five concentrations (10, 50, 100, 500 and 1000 ug/ml) and the outcomes were expressed as index of the activities, giving the reason between IC_{50} of the extract and the IC_{50} of the positive control acarbose, the IC_{50} value is defined as the

concentration that inhibit the 50% of the enzimatic activity (ug/ml)

The biggest inhibitory effect about α -amylase was found for the *Oreocallis Grandiflora* (Cucharillo) specie, with a IC₅₀ of 161 ug/ml, the others eight species didn't have any kind of activity about this enzyme. On the contrary, the nine species showed inhibitory activity over the α -glucosidase higher to the positive control, being *Oreocallis grandiflora* the specie that showed the best activity with a IC₅₀ of 3 ug/ml.

Key words: α -amylase, α -glucosidase, diabetic, medicinal plants.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo General:

Determinar la capacidad inhibitoria sobre αamilasa y α-glucosidasa a partir de los extractos totales de nueve especies vegetales: Piper crassinervium (Guabiduca), Baccharis genistelloides (Tres filos), Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca), Siparuna eggersii (Monte de oso); Ilex guayusa (Guayusa), Croton wagneri (Mosquera), Costus comosus (Caña agria), Verbena litorales y Oreocallis (Verbena) grandiflora (Cucharillo), usadas tradicionalmente por varias comunidades de la región Sur del Ecuador para el tratamiento de la diabetes.

1.2 Específicos:

- Determinar el efecto hipoglucemiante y evaluar la mejor concentración a través de la determinación del CI₅₀ de los extractos totales de nueve especies vegetales, mediante ensayos de inhibición enzimática sobre α-amisa.
- Determinar el efecto hipoglucemiante y evaluar la mejor concentración a través de la determinación del CI₅₀ de los

extractos totales de nueve especies vegetales, mediante ensayos de inhibición enzimática sobre α-glucosidasa

1.3 Fin del Proyecto

Lograr que el estudio de la capacidad inhibitoria sobre α -amilasa y α -glucosidasa a partir de extractos totales de varias plantas medicinales sirva de herramienta para la búsqueda de metabolitos secundarios que puedan constituirse como modelo para la síntesis de nuevos o novedosos agentes hipoglucemiantes.

1.4 Propósito del Proyecto

Determinar el efecto hipoglucemiante y evaluar la mejor Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀) de los extractos totales de *Piper crassinervium* (Guabiduca), *Baccharis genistelloides* (Tres filos), *Neonelsonia acuminata* (Zanahoria blanca), *Siparuna eggersii* (Monte de oso), *Ilex guayusa* (Guayusa), *Croton wagneri* (Mosquera), *Costus comosus* (Caña agria), *Verbena litorales* (Verbena) y *Oreocallis grandiflora* (Cucharillo).

1.5 Componentes del Proyecto

- Recolección de las especies vegetales objeto de estudio
- 2. Obtención de los extractos totales.
- Para cada enzima, medición de las absorbancias de las muestras preparadas a partir de los extractos totales.
- 4. Cálculo de los Cl₅₀ para cada extracto.

1.6 Hipótesis del Proyecto

 H_0 : Los extractos de las nueve especies vegetales NO inhiben la actividad de las enzimas α-amilasa y α-glucosidasa.

 H_1 : Los extractos de las nueve especies vegetales SI inhiben la actividad de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa.

1.7 Diseño Experimental

Para la realización de la presente investigación se utilizó un Diseño Simple al Azar teniendo como variable independiente la concentración del extracto y como variable dependiente la capacidad inhibitoria de los extractos, expresada como % de inhibición de la actividad enzimática. Ambas variables de estudio nos permitieron comparar todos los resultados obtenidos y determinar el Cl₅₀, es decir la concentración del inhibidor requerida para inhibir el 50% de la actividad enzimática.

Tabla 1. Diseño simple al azar.

Table 11 Dicerio cimpio di azari						
	Rep	oeticio	nes			
Concentración	R1	R2	R3	Total de concentraciones (Y _i .)		
C ₁	Y ₁₁	Y ₁₂	Y ₁₃	Y ₁		
C ₂	Y ₂₁	Y ₂₂	Y ₂₃	Y ₂		
C ₃	Y ₃₁	Y ₃₂	Y ₃₃	Y ₃		
C ₄	Y ₄₁	Y ₄₂	Y ₄₃	Y_4		
C ₅	Y ₅₁	Y ₅₂	Y ₅₃	Y_5		
Suma repeticiones (Y.j)	Y.1	Y.2	Y.3	Y		

Fuente: autora

2. INTRODUCCIÓN

2.1.LA DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica padecida por millones de personas en todo el mundo [1], constituyéndose una de las mayores causas de muerte prematura [2]. La diabetes es una enfermedad en la que el organismo no produce insulina o no la utiliza adecuadamente. La insulina es una hormona necesaria para transformar el azúcar, el almidón y otros alimentos en la energía que necesitamos para nuestra vida cotidiana. Aunque tanto los factores genéticos como medioambientales, tales como la obesidad y la falta de ejercicio, parecen desempeñar roles importantes, la causa de la diabetes continúa siendo un misterio [3].

Actualmente la diabetes afecta a más de 230 millones de personas en todo el mundo [4] y según la Organización Mundial de la Salud se espera que este número alcance la cifra de 366 millones para el 2030 [5]. El 80% de la población con diabetes vive en países subdesarrollados o en vías de desarrollo, donde la mayoría de los pacientes están entre los 45 y 64 años de edad [4, 6, 7].

En Ecuador, la diabetes es la tercera causa de muerte y la quinta de morbilidad [8]. Datos del Ministerio de Salud Pública (MSP) del Ecuador dan cuenta que 1,3 millones de ecuatorianos

padecen diabetes (67% de los casos han sido reportados en mujeres) [8]. Por su parte, la OMS estima que la prevalencia de diabetes en el Ecuador aumentará de 341 mil casos en el 2000 a 921 mil casos para el 2030 [5].

En la Provincia de Loja, según datos reportados por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), en el 2005 la diabetes se caracterizó como la primera causa de muerte femenina con una tasa de mortalidad de 25,4 por cada 100 mil habitantes de sexo femenino [9]. En un estudio realizado por el CADES (Centro de Asesoría y Desarrollo Empresarial y Social) y el CBCM (Centro de Biología Celular y Molecular), ambos de la Universidad Técnica Particular de Loja, para determinar la incidencia de la diabetes en la zona urbana de la Ciudad de Loja sobre un grupo de personas mayores a 30 años, se determinó que aproximadamente el 12% de las personas sufría diabetes, de las cuales el mayor porcentaje (77,8%) poseía diabetes Tipo II [10].

Frente a esta importante estadística, actualmente se han desarrollado un sinnúmero de fármacos orales que se utilizan para el tratamiento de la diabetes; no obstante, en muchos países en vías de desarrollo, la medicina herbolaria sigue constituyendo la base fundamental para la terapia antidiabética [11].

Muchas especies de plantas han sido usadas etnofarmacológicamente o experimentalmente

para el tratamiento de la diabetes mellitus. Estas representan más de 725 géneros en 183 familias [12]. Algunas de ellas poseen una acción hipoglucemiante específica, otras estimulan la producción de insulina, varias inhiben la acción de enzimas digestivas responsables de la absorción intestinal de los carbohidratos de la dieta [13].

Numerosos son los metabolitos hipoglucemiantes (alcaloides, cumarinas flavonoides, esteroides, terpenoides, etc.,) que han sido obtenidos de diversas especies vegetales pertenecientes a una amplia variedad de familias [12]; algunas de las cuales, Piperaceae, Asteraceae, Apiaceae Aguifoliaceae, Verbenaceae, Euphorbiaceae y Costaceae son comunes a siete de las nueve especies seleccionadas para el presente estudio: Piper crassinervium, Baccharis genistelloides, Neonelsonia acuminata, Ilex guayusa, Verbena litoralis, Croton wagneri y Costus comosus respectivamente. En lo que respecta a las familias Monimiaceae, Proteaceae a las cuales Siparuna eggersii y Oreocallis pertenecen grandiflora, respectivamente, según bibliografía consultada al momento no se han reportado estudios de especies con actividad antidiabética; no obstante, estas plantas al igual que las otras especies fueron seleccionadas por su gran difusión en el tratamiento de la diabetes en varias comunidades del Sur del Ecuador.

2.2 TRATAMIENTO DE LA DIABETES MELLITUS

En lo que respecta al tratamiento de la diabetes, el objetivo de una terapia antidiabética en pacientes insulinodependientes (Tipo е insulinoindependientes (Tipo II) es alcanzar la normoglucemia, por lo que el tratamiento basa en 4 factores fundamentales: la educación del paciente en cuanto la enfermedad, (2) ejercicio físico, (3) dieta; y, (4) agentes hipoglucemiantes [14]; sin embargo, en la elección del tratamiento hay que tener en cuenta el mecanismo de acción, eficacia, efectos secundarios, contraindicaciones, interacciones y costos [12].

Al momento se conoce un sinnúmero de sustancias con propiedades antidiabéticas que han sido aisladas de especies vegetales [15] por ello desde una perspectiva etnofarmacologica, el tratamiento de la diabetes se encuentra en la interface de la biomedicina convencional y local (tradicional); muchos pacientes diabéticos luego de diagnosticados, utilizan la medicina herbolaria sola o en combinación con la medicina convencional [16].

2.3 MECANISMOS DE ACCIÓN DEPRINCIPIOS ANTIDIABÉTICOS PROVENIENTES DE PLANTAS

Los mecanismos de acción por los cuales las plantas disminuyen el nivel de glucosa en la sangre pueden ser atribuidos a alguno de los siguientes factores: aumento de la liberación de insulina a través de la estimulación de las células B-pancreáticas, resistencia a las hormonas que aumentan el nivel de glucosa, aumento del número y sensibilidad de sitios receptores de insulina, disminución de la pérdida de glucógeno, aumento del consumo de glucosa en los tejidos y órganos, eliminación de radicales resistencia peroxidación lípidos. а la de estimulación o aumento de la microcirculación de sangre en el organismo [12].

2.4 INHIBICION DE α -AMILASA Y α -GLUCOSIDASA

Las enzimas glucosidasas están situadas en el borde del cepillo en los enterocitos del intestino delgado. Los hidratos de carbono compleios ingeridos son fragmentados inicialmente por las amilasas salival y pancreática para dar lugar a oligosacáridos. Los oligosacáridos, entre ellos los disacáridos como sacarosa y maltosa, han de ser fragmentados en sus respectivos monosacáridos: glucosa y fructosa para la sacarosa y 2 moléculas de glucosa para la maltosa. Los inhibidores de las glucosidasas se unen a las alucosidasas intestinales e inhiben su acción. Su administración junto con los alimentos produce una interferencia de la hidrólisis de los

oligosacáridos y de los disacáridos, disminuyendo y retardando su absorción [17] .

Una estrategia efectiva para el manejo de la diabetes tipo 2 es la inhibición de estas enzimas glucosidasas [18] especialmente α -glucosidasa y α -amilasa, moderando así la elevación postprandial de azúcar en la sangre con la consiguiente disminución de los efectos de la dieta en la hiperglucemia [19].

2.5 ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO

Tradicionalmente, las plantas medicinales han constituido una de las principales fuentes de compuestos con efecto hipoglucemiante por lo que podrían ser utilizados para la elaboración de fármacos con este fin [20].

Las especies vegetales del Ecuador especialmente adecuadas para el análisis de cualquier tipo de actividad biológica, ya que se encuentran en una zona donde predomina el clima tropical y subtropical, lo que les ha permitido desarrollar, a través de la evolución, mecanismos de acumulación de metabolitos secundarios podrían tener distintas aue aplicaciones terapéuticas. entre ellas la hipoglucemiante [20].

La Planta de Productos Naturales de la Universidad Técnica Particular de Loja, desde sus inicios se encuentra desarrollando un programa de evaluación de plantas usadas en la Medicina Tradicional de la Región Sur del Ecuador a fin de revalorizar e impulsar su uso

mediante el estudio de sus principios activos. Es así que al momento cuenta con un catálogo de más de 570 especies de las cuales 96 son conocidas por su aplicación antidiabética. Las siguientes son algunas características generales de las nueve especies consideradas para el presente estudio:

2.5.1. Piper crassinervium (Guabiduca)



Fig. 1 Fotografía de *Piper crassinervium*, tomada en el cantón Chaguarpamba Provincia de Loja.

FAMILIA: PIPERACEA

DISTRIBUCIÓN: Estatus nativo de los andes y la Amazonía encontrado desde 0 a 2500 m s.n.m.

PROVINCIAS: Carchi, Guayas, Zamora-Chinchipe.,

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Arbusto o arbolito muy ramificado de hasta 4 m, espádice de 5 cm color crema, inflorescencia café verdosa erguidas, espiga color verde amarillento [21].

USOS: Se emplea los tallos y las hojas para el tratamiento de la diabetes, gastritis y próstata

MODO DE USO: Infusión [21].

2.5.2 Baccharis genistelloides (Tres filos)



Fig. 2. Fotografía de *Baccharis genistelloides*, tomada en en el Barrio Jipiro Alto Provincia de Loja.

FAMILIA: ASTERACEAE

PROVINCIAS: Azuay, Cañar, Loja, Pichincha, Zamora Chinchipe, etc.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Arbusto que alcanza hasta 2 m de altura, semileñoso con médula esponjosa. Lámina coreacea extendida a lo largo del tallo formando 3 ángulos, a lo largo de la lámina, bordes sinuados. Nervadura reticulada, inflorescencia sésil en capítulos de 0,5 a 0,8 mm de largo, fruto aquenio con abundante papus de color blanco [21].

USOS: Se la emplea las hojas y tallo para el tratamiento de reumatismo, diabetes.

2.5.3 Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca)



Fig. 3 Fotografía de *Neonelsonia acuminata* tomada del Herbario de la Plantas de Productos Naturales. UTPL

FAMILIA: APIACEAE

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Es una planta andina herbácea y perenne, [22]. La altura de la planta es de 60 a 100 cm. [23] follaje escuamuloso, El tallo es de forma cilíndrica, las hojas son pinnadas, largamente pecioladas y tienen de 3 a 7 foliolos a su vez muy recortados [24]; peciolos envainados. Inflorescencias con umbelas compuestas. Fruto lanceolado u oblongo. Las semillas son teretiformes. Se propaga vegetativamente a través de los hijuelos o ramas [22].

USOS: Se emplea las hojas para el tratamiento de cólico estomacal.

2.5.4. Siparuna eggersii (Monte de Oso)



Fig 4. Fotografía de *Siparuna eggersii*, tomada del Herbario de la Plantas de Productos Naturales. UTPL.

FAMILIA: MONIMIACEAE

PROVINCIAS: Azuay, Bolívar, Guayas, Loja, Pichincha, Zamora Chinchipe.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Arbusto moderadamente pubescente, hojas verticiladas en número de cuatro. Peciolo de 1.5 a 1.8 cm de largo, lámina verde amarillenta elíptica de 9 a 11 cm por 4 a 5 cm, base obtusa. Ápice apiculado de 0.5 cm de largo, superficie glabra con unos pocos pelos estrellados. Margen denticulado, flores axilares en cada nudo de 2 cm de largo pubescentes cuando son tiernas. Fruto, receptáculo globoso [21].

USOS: Se emplea las hojas para el tratamiento de la diabetes, fracturas, reumatismo y afecciones renales

MODO DE USO: Infusión [21].

2.5.5. Ilex guayusa (Yuagusa)



Fig.5 Fotografía de *Ilex guayusa*, tomada en la Parroquia Malacatos Provincia de Loja.

FAMILIA: AQUIFOLIACEAE

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Árbol nativo de la Región Amazónica, especie silvestre y cultivada de 4 a 15 m de altura o más, tronco de hasta 1 m de diámetro. Hojas alternas coriáceas, oblongoelípticas 9,5–17 cm de longitud por 3,8–7 de ancho, ápice acuminado y base aguda, margen simple o ligeramente dentado, haz y envés glabros, peciolo corto de 1 cm de largo, estipulas conspicuas. Inflorescencia en las axilas de las hojas, fasciculadas, 4,5 lobulados, corola con los pétalos obtusos, anteras oblongas, ovario supero subgloboso, estigma sésil. [25].

USOS: Se emplea las hojas para el tratamiento de la gastritis y fertilidad en la mujer.

MODO DE USO: Infusión [21].

2.5.6. Croton wagneri (Mosquera)



Fig. 6 Fotografía de *Croton wagneri*, tomada en el Cantón Catamayo Provincia de Loja.

FAMILIA: EUPHORBIACEAE

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Arbusto o arbolito muy ramificado de hasta 4 m, espádice de 5 cm color crema, inflorescencia café verdosa erguidas, espiga color verde amarillento [21]

USOS: Se emplea las hojas para el tratamiento de amigdalitis, antiácido, cólico estomacal, diabetes, fiebre y gastritis.

2.5.7. Costus comosus (Caña agria)



Fig. 7 Fotografía de *Costus comosus*, tomada vía Jamboe Bajo Provincia de Zamora Chinchipe.

FAMILIA: COSTACEAE

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Hierba arbustiva, suculenta. Hojas simples, alternas, equidistantes, 50 cm de longitud, 8 cm de ancho en la parte media [26] Presentan tallos aéreos simples o a veces ramificados en disposición helicoidal. Inflorecescencias terminales, con brácteas, un solo estambre funcional (polinífero); 3 sépalos, verdes no petaloideos; 3 pétalos, desiguales [27].

USOS: Se emplea los tallos para el tratamiento de: cefalea, cólico hepático, diabetes, fiebre, afecciones renales y garganta.

2.5.8. Verbena litoralis (Verbena)



Fig. 8 Fotografía de *Verbena litoralis*, tomada en el Cantón Sozoranga Provincia de Loja.

FAMILIA: VERBENACEAE

perennes o semileñosas que mide hasta 1 metro de alto, puede ser cultivada en cualquier época del año. Las hojas son usualmente opuestas, simples, y en muchas especies pilosas, frecuentemente densamente. Flores pequeñas, blancas, rosa, púrpuras o azules, con cinco pétalos [28].

USOS: Se emplea toda la planta para el tratamiento: alopecia, antiparasitario, cefalea, cólico estomacal, cólico hepático, cólico menstrual, contusiones, dermatitis, desinfectante y cicatrizante, dislipidemia, escorbuto, espanto y Gripe.

2.5.9 Oreocallis grandiflora (Cucharillo)



Fig. 9 Fotografía de Oreocallis grandiflora, tomada en el Villonaco Provincia de Loja.

FAMILIA: PROTEACEAE

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA: Árboles y arbustos de hojas normalmente alternas, a veces opuestas o verticiladas. Estas son coriáceas, simples o compuestas, enteras, dentadas o lobuladas, sin estípulas. Inflorescencias axilares o terminales, frecuentemente en racimos, espigas o cabezuelas. Fruto en folículo, a veces leñoso. Las semillas son aladas en muchas ocasiones [29]

USOS: Se emplea las hojas, corteza y flores para el tratamiento: cefalea, cólico hepático, diabetes, fiebre, afecciones renales y tos.

MODO DE USO: Cocción [21].

3 MATERIALES Y METODOS

3.2 Área de recolección

Tabla 2. Lugares de recolección de las especies vegetales.

Especie	Lugar de recolección
Piper crassinervium	Cantón
	Chaguarpamba
	(Loja)
Baccharis genistelloides	Barrio Jipiro Alto
	(Loja)
Neonelsonia acuminata	Cantón Saraguro
	(Loja)
Siparuna eggersii y	Cantón Sozoranga
Verbena litorales	(Loja)
llex guayusa	Parroquia Malacatos
	(Loja)
Croton wagneri	Cantón Catamayo
	(Loja)
Costus comosus	Vía Jamboe Bajo
	(Zamora Chinchipe)
Oreocallis grandiflora	Villonaco (Loja)

Fuente: autora

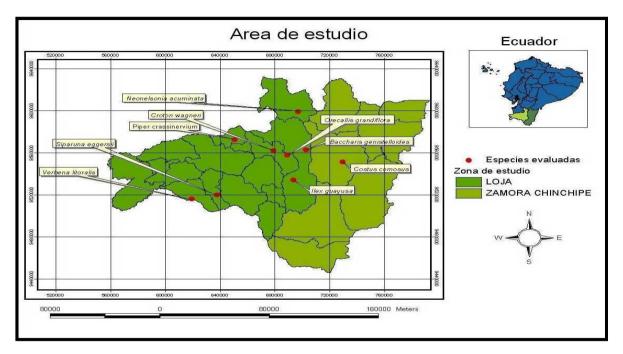


Fig. 10. Mapa de los lugares de recolección de las nueve especies vegetales de las provincias de Loja y Zamora Chinchipe.

3.2. Obtención de los extractos

Las características vegetales de las especies fueron identificadas en el herbario de UTPL. Se realizó la selección de las partes útiles, eliminando las partes dañadas y se secó a 37 grados centígrados por 8 días. Pasado este tiempo se trituraron las plantas (1 cm). La obtención de los extractos se realizó por maceración dinámica a temperatura ambiente por 5 horas, con una relación metanol:planta de 10:1.

3.3 Curvas estándar

Se inició con la calibración espectofotométrica de las curvas estándar utilizando una solución de maltosa para α-amilasa y de p-Nitrophenyl-α-D-Glucoside (PNP-G) para α-glucosidasa, según los procedimientos descritos en la literatura [30].

3.4 Ensayo de inhibición de α-amilasa (EC 3.2.1.1)

3.4.1 Principio

Almidón + H_2O $\underline{\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ }$ Grupos reducidos maltosa [31].

3.4.2 Condiciones

T= 20-25°C, pH= 6.9, A_{540nm} [31].

3.4.3 Procedimiento

La solución enzimática fue preparada con 23 U por ensayo en un volumen de 20 ml de agua desionizada fría. Adicionalmente, se preparó una solución de almidón al 1.5% en PBS 30 mM, la misma que fue llevada a ebullición por 15 minutos. 125 ul de esta solución fueron mezclados en un tubo de vidrio con 125 ul de inhibidor a varias concentraciones (10, 50, 100, 500 y 1000 ug/ml) manteniéndose a 20-25 grados centígrados por 5 minutos para alcanzar el equilibrio. Luego a cada tubo se adicionaron 125 ul de la solución enzimática y se incubó a 20 grados centígrados por 3 minutos. Después de este tiempo fueron adicionados a todos los tubos 125 ul de una solución de DNS (96 mM de ácido 3,5 dinitrosalisilico y tartrato de sodio y potasio en NaOH 2 M). Finalmente se llevó a ebullición en baño maría por 15 minutos e inmediatamente se enfrió en baño de hielo por unos pocos segundos. A la reacción así detenida se adicionaron 2 ml de agua desionizada, se mezcló por inversión en cada tubo y se transfirió a una celda espectrofotométrica para iniciar la lectura de absorbancias a 540 nm.

Tabla 3. Esquema para la determinación de la actividad inhibitoria de α -amilasa.

ENSAYO DE INHIBICIÓN DE α-AMILASA								
SOLUCIONES	MUESTRA (B)	BLANCO (D)	CONTROL (A)	CONTROL (C)				
INHIBIDOR	125 ul	125 ul	-	-				
H ₂ O	-	-	125 ul	125 ul				
SUSTRATO	SUSTRATO 125 ul 125 ul 125 ul 125 ul							
Mezclar p	or inversión	e incubar a	20-25 °C po	r 5 min				
ENZIMA	125 ul	-	125 ul	-				
H ₂ O	•	125 ul	•	125 ul				
Mezclar p	or inversión	e incubar a	20-25 °C po	r 3 min				
DNS	125 ul	125 ul	125 ul	125 ul				
Llevar a ebullición por 15 min y luego enfriar en baño de hielo								
H ₂ O	2000 ul	2000 ul	2000 ul	2000 ul				
Mezclar por i	nversión y le	er en espec	trofotómetr	o a 540 nm				

Fuente: autora

3.5 Ensayo de inhibición de α-glucosidasa (EC 3.2.1.20)

3.5.1 Principio

 $p\text{-Nitrophenyl-}\alpha\text{-D-Glucoside} \quad \underline{\alpha\text{-Glucosidase}} \quad \alpha\text{-D-Glucose} + p\text{-Nitrophenol [31]}.$

3.5.2 Condiciones

 $T=37^{\circ}C$, pH= 6.9, A_{400nm} [31].

3.5.3 Procedimiento

La solución enzimática fue preparada con 5,7 U (1 mg) por ensayo en un volumen de 3,22 ml de agua desionizada fría. En cada tubo de reacción, 35 ul de solución enzimática fueron adicionados a 35 ul de inhibidor preparado a varias concentraciones (10, 50, 100, 500 y 1000 ug/ml) y se mantuvo a 37 grados centígrados por 5 minutos para alcanzar el equilibrio. La reacción se inició al agregar 930 ul de p-Nitrophenyl-α-D-Glucoside (PNP-G) (0,914 mM en PBS 67 mM) y toda la mezcla fue incubada a 37 grados centígrados por 15 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación se adicionó a cada tubo 1 ml de solución TRIS (0,5 M) para detener completamente la reacción. Se mezcló por inversión ٧ se transfirió а una celda espectrofotométrica para iniciar la lectura de absorbancias a 400 nm.

Tabla 4. Esquema para la determinación de la actividad

inhibitoria de α-glucosidasa.

irinibitoria de d-gideosidasa.									
ENSAYO DE INHIBICIÓN DE α-GLUCOSIDASA SOLUCIONES MUESTRA BLANCO CONTROL CONTROL									
SOLUCIONES	MUESTRA	CONTROL							
	(B)	(D)	(A)	(C)					
INHIBIDOR	35 ul	35 ul	-	-					
ENZIMA	ENZIMA 35 ul - 35 ul -								
H ₂ O	H ₂ O -		35 ul	70 ul					
Mezclar	por inversió	n e incubar	a 37°C por	5 min					
SUSTRATO	930 ul	930 ul	930 ul	930 ul					
Mezclar j	Mezclar por inversión e incubar a 37 °C por 15 min								
TRIS	TRIS 1000 ul 1000 ul 1000 ul 1000 ul								
Mezclar por inversión y leer en espectrofotómetro a 400 nm									

Fuente: autora

3.6 CALCULO DE LA CI_{50} PARA LOS ENSAYOS ESPECTOFOTOMETRICOS DE INHIBICIÓN DE α -AMILASA Y α -GLUCOSIDASA.

Las absorbancias registradas son transformadas posteriormente a porcentajes de inhibición: (% INH)

$$%INH = 100 \{1- [(B - D) / (A - C)]\};$$

Donde B es la absorbancia de la muestra, D es la absorbancia del blanco (sin enzima), A es la absorbancia del control 1 (sin inhibidor) y C es la absorbancia del control 2 (sin inhibidor y sin enzima) [32].

Con los datos (variables continuas) así obtenidos se efectuó un análisis de regresión logística modelo Logit con un intervalo de confianza del 95%, para ello se utilizó el programa XLSTAT obteniéndose los respectivos valores de CI_{50} de cada extracto en ambos sistemas enzimáticos. Recuérdese que el CI_{50} se define como la concentración requerida para inhibir el 50% de la actividad enzimática bajo las condiciones de ensayo [32]. Además los resultados fueron comparados con el CI_{50} del control positivo que para fines de este estudio fue el inhibidor acarbosa.

4 RESULTADOS

4.1 INHIBICION DE α-AMILASA

Como se puede ver en la Tabla 5, para el ensayo de inhibición de α-amilasa no se pudo determinar los valores de CI₅₀ de los extractos totales de Piper crassinervium (Guabiduca), Baccharis genistelloides (Tres filos), Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca), Ilex guayusa (Guayusa), Costus comosus (Caña agria) y Verbena litorales (Verbena) debido a que estas especies no presentaron ningún tipo de actividad a concentraciones ensayadas. En el caso de Siparuna eggersii (Monte de Oso) y Croton wagneri (Mosquera) se encontró una leve actividad con porcentajes de inhibición menores al 50% aún a la máxima concentración de ensayo (1000 ug/ml) por lo que no fue posible interpolar los respectivos valores de CI₅₀.

Finalmente para la especie *Oreocallis grandiflora* (Cucharillo) el Cl₅₀ calculado fue de 161 ug/ml.

4.2 INHIBICION DE α-GLUCOSIDASA

Como se puede ver en la Tabla 6 para el ensayo de inhibición de α-glucosidasa se determinó los valores del Cl₅₀ de los extractos totales de *Piper crassinervium* (Guabiduca), *Baccharis genistelloides* (Tres filos), *Neonelsonia acuminata* (Zanahoria blanca), *Ilex guayusa* (Guayusa), *Croton wagneri* (Mosquera), *Costus comosus* (Caña agria), *Verbena litorales* (Verbena) y *Siparuna eggersii* (Monte de Oso), presentando valores superiores al control positivo acarbosa. La especie que mayor actividad presentó fue *Oreocallis grandiflora* (Cucharillo) con un Cl₅₀ de 3 ug/ml. tabla 7.

Tabla 5. % de Inhibición de los nueves extractos metanólicos y del control positivo acarbosa frente a α-amilasa y sus respectivos valores de CI_{50} .

	AAH											
CONC	ACARBOSA	Costus	Piper	llex	Siparuna	Croton	Oreocallis	Baccharis	Verbena	Neonelsonia		
(ug/ml)		comosus	crassinervium	guayusa	eggerssi	wagneri	grandiflora	genestilloides	litoralis	acuminata		
10	10±0.8	NA	NA	NA	21±0.5	27±4.3	01±1.0	NA	NA	NA		
50	50±2.4	NA	NA	NA	26±1.3	30±5.5	18±0.3	NA	NA	NA		
100	69±2.2	NA	NA	NA	29±1.9	31±5.9	53±3.3	NA	NA	NA		
500	84±2.1	NA	NA	NA	30±1.7	31±3.4	75±3.4	NA	NA	NA		
1000	93±2.1	NA	NA	NA	49±1.0	36±4.4	83±3.5	NA	NA	NA		
CI ₅₀ (ug/ml)	76				>1000	>1000	161					

Tabla 6. % de Inhibición de los nueves extractos metanólicos y del control positivo acarbosa frente a α-glucosidasa y sus respectivos valores de Cl₅₀.

	AGH											
CONC (ug/ml)	ACARBOSA	Costus comosus	Piper crassinervium	llex guayusa	Siparuna eggerssi	Croton wagneri	Baccharis genestilloides	Verbena litoralis	Neonelsonia acuminata			
10	03±0.9	06±1.3	11±3.3	06±0.6	17±0.9	08±1.4	03±0.0	0±0.0	13±0.9			
50	07±2.0	49±2.7	21±2.3	08±1.2	66±1.7	13±1.3	19±0.2	0±0.0	15±2.3			
100	13±2.0	71±1.5	39±2.1	15±0.7	95±2.4	27±2.4	36±1.0	0±0.2	21±3.7			
500	33±2.3	91±2.5	93±2.9	90±2.7	96±2.0	87±1.9	77±3.2	81±1.9	73±0.2			
1000	52±2.7	96±1.1	98±2.8	100±0	100±0	93±2.1	98±0.0	99±0.8	91±2.0			
Cl ₅₀	984	58	109	177	28	162	155	377	199			

Tabla 7. % de Inhibición del extracto metanólico Oreocallis gradiflora (Cucharillo) y del control positivo acarbosa frente a α -glucosidasa y sus respectivos valores de Cl₅₀.

AGH								
CONC (ug/ml)	ACARBOSA	Oreocallis grandiflora						
1	03±0.9	08±1.8						
5	07±2.0	77±3.3						
10	13±2.0	97±2.4						
50	33±2.3	98±2.0						
100	52±2.7	99±1.5						
Cl ₅₀ (ug/ml)	984	3						

AGH: α-glucosidasa

5. DISCUSIÓN

5.1 ENSAYO ESPECTOFOTOMETRICO DE INHIBICION DE α -AMILASA Y α -GLUCOSIDASA.

ENSAYO ESPECTOFOTOMETRICO DE INHIBICION DE α -AMILASA.

Luego del análisis ANOVA (programa XLSTAT) de los % de inhibición frente a las respectivas concentraciones para cada uno de los extractos y con un intervalo de confianza del 95%, se estableció que Piper crassinervium, Ilex guayusa, Baccharis genistelloides, Neonelsonia acuminata, Costus comosus y Verbena litoralis no presentaron ningún efecto dosis-respuesta a las concentraciones ensayadas.

Por su parte *Siparuna eggersii y Croton wagneri* presentaron un efecto dosis-respuesta poco significativo, en tanto que *Oreocallis grandiflora* perteneciente a la familia PROTEACEAE, presentó un efecto dosis-respuesta apreciable con un Cl₅₀ de 161 ug/ml.

ENSAYO ESPECTOFOTOMETRICO DE INHIBICION DE α-GLUCOSIDASA

El análisis ANOVA (programa XLSTAT) de los % de inhibición frente a las respectivas concentraciones para cada uno de los extractos y con un intervalo de confianza del 95% mostró

que los nueve extractos: *Piper crassinervium, llex guayusa, Verbena litoralis, Baccharis genestilloides, Neonelsonia acuminata, Siparuna eggersii, Croton wagneri, Costus comosus y Oreocallis grandiflora,* presentaron un efecto dosis-respuesta con valores de Cl₅₀ menores a los del control positivo acarbosa, lo que indica una mejor actividad inhibitoria de los extractos respecto a este último.

De manera especial *Oreocallis grandiflora* fue la especie con mejor actividad inhibitoria presentando un Cl_{50} de 3 ug/ml. Contrariamente la especie: *Verbena litoralis*, con un Cl_{50} de 377 ug/ml fue la especie con la más baja actividad respecto al control positivo acarbosa.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

- Bajo condiciones de ensayo, la especie vegetal Oreocallis grandiflora presentó una importante actividad inhibitoria sobre αamilasa y α-glucosidasa, la misma que sugiere la presencia de metabolitos que podría ser de interés para la industria farmacéutica.
- A pesar de la escasa actividad inhibitoria de las otras 8 especies en ambos sistemas de evaluación y bajo las condiciones de ensayo, no se descarta su actividad antidiabética (ampliamente difundida en la medicina tradicional), la cual podría deberse a mecanismos de acción distintos a los aquí analizados.

6.2 RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio de Oreocallis grandiflora mediante aislamiento biodirigido a fin de identificar los compuestos responsables de la inhibición enzimática de α-amilasa y α-glucosidasa.
- Debido a la gran aplicabilidad etnomédica de las nueves especies en el tratamiento de la

diabetes se debería continuar con su estudio utilizando otros sistemas de evaluación *in vitro* a fin de confirmar su actividad hipoglucemiante mediante mecanismo de acción alternativos.

 Estudiar nuevas especies vegetales que desde la perspectiva etnomédica han demostrado tener propiedades antidiabéticas a fin de potenciar el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales en beneficio de la salud y el bienestar de la población.

REFERENCIAS

- 1. Familiar, G.M., Enfermedades más corrientes de la Diabetes. [cited; Available from: http://www.explored.com.ec/guia/fas82.thm, 1998.
- 2. WHO, *Diabetes Programme*. (cited; Available from: , 2008.
- 3. American Diabetes Association. Cure cara Commitmen. www.diabetes.org
- 4. WorldDiabetesFoundation, *Diabetes* facts. 2006 [cited; Available from: http://www.worlddiabetesfoundation.or g/composite-35.htm.
- 5. WHO, *Diabetes Programme*. 2008 [cited; Available from: http://www.who.int/diabetes/en/.
- 6. SOCIEDAD, El 70% de diabéticos no recibe tratamiento in Hoy. 2006: Quito.
- 7. WHO, WHO and IDF working together. Diabetes Voice. 2004: p. 49(2): p. 27-31.
- DIVERSIDAD, Diabates requiere de una norma para atención prioritaria. El telégrafo, 2008.
- 9. INEC., Enfermedades y problemas relacionados con la salud en la Provincia de Loja 2005. 2007. [cited; Available from:
 - www.inec.gov.ec/c/document_library/ge t file?folderId=77928&name=DLFE-

- 5117.pdf
- 10. Determinación de la influencia de la diabetes en la ciudad de Loja. 2006.
- 11. Takahiro, T.a.T.T., Carbohydrase inhibitors derived from Fagaceous plants and use thereof. [cited 2007 2007-12-20]; Available from: http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp? wo=2006030567&IA=WO2006030567&D ISPLAY=DESC, 2006.
- 12. Negri, G., Diabetes melito: plantas e principios ativos naturais hipoglicemiantes. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005. **41**(2): p. 121-142.
- 13. Soumyanath, A., Traditional Medicines for Modern Times. Antidiabetic Plants. Traditional Herbal Medicines for Modern Times, ed. T.F. Group. 2006, USA: CRC Press. 314.
- Fernández, I., Actualización en antidiabéticos orales. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud,. 2001: p. 25(2): p. 33-45.
- 15. Shim, Y.-J., et al., Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of Rhus chinensis on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. Journal of Ethnopharmacology, 2003. **85**: p. 283-287.
- 16. Cetto, A.A.a.M.H., Mexican plants with

- hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. Journal of Ethnopharmacology, 2005: p. 99:p.325-348.
- UNMSM. Inhibidores de la α-glucosidasaa. [cited; Departamento de Farmacología:[Available from: http://medicina.unmsm.edu.pe/farmacologia/diabetes1/paginas/Page3905.htm.
- 18. Krentz, A. and C. Bailey, *Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus*. Southampton University Hospitals NHS Trust, Southampton, UK., 2005.
- 19. Bischoff, H., *Pharmacology of alpha-glucosidase inhibition*. Eur.J.Clin. Invest, 1994. **24**(3): p. 385-411.
- Vogel, H., et al., Antioxidant properties and TLC characterization of four Chilean Haplopapps-species know as bailahuen. Repositario Academico de la Universidad de Chile, 2005. 97: p. 97-100.
- 21. Zaragoza, T., Tene, V., Malagón, O., Armijos, Ch., Burneo, I., Jaramillo, X. 2004. , Bioactividad de aceites esenciales y extractos de plantas medicinales y aromáticas de la Región Sur del Ecuador. Proyecto de financiación Nacional PFN-O. FUNDACYT UTPL.
- 22. Raúl Blas-Sevillano, R.A.J.-O.J.P.B., Inducción Floral de Arracacha. IDESIA

- (Chile) Enero- Abril 2006. **24, № 1**: p. 31-36.
- 23. Higuitia, M., El cultivo de la arracacha en la Sabana de Bogotá. Instituto colombiano agropecuario. Bogotá.
- 24. León, J., Plantas alimenticias andinas. Instituto interamericano de ciencias agrícolas zona andina. Lima.
- 25. Matteo, R., Caracterización fitoquímicas de la especie llex guayusa y elaboración de un prototipo de Fito- fármaco de interés comercial. , Universidad Politécnica Salesiana Unidad de Postgrados.
- 26. Trujillo Blair Silvia, M.B., Plantas antimalaricas de Tumaco. Editorial Universidad de Antioquia , Costa pacifica colombiana
- 27. Wikipedia®, Familia Costaceae, www.Wikipedia,%20la%20enciclopedia% 20libre.htm
- 28. Wikipedia, *Diccionario enciclopédico popular ilustrado Salvat.*
- 29.http://www.arbolesornamentales.com/Prote aceae.htm. [cited.
- 30. Aldrich, S., *Enzymatic Assay of a- AMYLASE (ec 3.2.1.1).* 1997: p. 3.
- 31. Sigma, Sigma Quality Control Test Procedure. ProductInformation.
- 32. Matsui, T., et al., In Vitro Survey of α -Glucosidase Inhibitory Food Components.

Biosci, Biotech. Biochem., 1996. **60**(12): p. 2019-2022.

Tabla 5. % de Inhibición de los nueves extractos metanólicos y del control positivo acarbosa frente a α -amilasa y sus respectivos valores de Cl₅₀.

100	AAH									
CONCUBE)	AC AR BO SA	C os tu s co m os us	Pip er cra ssin ervi um	lle x gu ay us a	Si pa ru na eg ge rs si	Cr ot o n w a g n er i	Or eo cal lis gra ndi flo ra	Bac cha ris gen estil loid es	V er be na lit or ali s	Ne one Iso nia acu min ata
1 0 5 0 1 0 0 5 0 0 1 0 0 0	10 ±0 .8 50 ±2 .4 69 ±2 .2 .84 ±2 .1 .93 ±2 .1	N	NA NA NA NA NA	N	21 ±0.5.26 ±1.3.29 ±1.7.49 ±1.0.	2 7 ± 4.3 3 0 ± 5.5 3 1 ± 5.9 3 1 ± 3.4 3 6 ± 4.4	01 ±1. 0 18 ±0. 3 53 ±3. 3 75 ±3. 4 83 ±3. 5	NA NA NA NA NA	N	NA A A A A A A A A A A A A A A A A A A
CI 50 (u	76	-			> 1	> 1	16 1		-	-

g/			0	0		
m IV			0	0		
1)			0	0		

Tabla 6. % de Inhibición de los nueves extractos metanólicos y del control positivo acarbosa frente a α -glucosidasa y sus respectivos valores de Cl_{50} .

	AGH										
CO NC (ug/ ml)	ACAR BOSA	Cost us como sus	Piper crassine rvium	llex guay usa	Sipar una egge rssi	Crot on wag neri	Bacchar is genestill oides	Verb ena litora lis	Neonel sonia acumin ata		
10	03±0.	06±1	11±3.3	06±	17±0	08±	03±0.0	0±0.	13±0.9		
50	9	.3	21±2.3	0.6	.9	1.4	19±0.2	0	15±2.3		
100	07±2.	49±2	39±2.1	08±	66±1	13±	36±1.0	0±0.	21±3.7		
500	0	.7	93±2.9	1.2	.7	1.3	77±3.2	0	73±0.2		
100	13±2.	71±1	98±2.8	15±	95±2	27±	98±0.0	0±0.	91±2.0		
0	0	.5		0.7	.4	2.4		2			
	33±2.	91±2		90±	96±2	87±		81±			
	3	.5		2.7	.0	1.9		1.9			
	52±2.	96±1		100	100±	93±		99±			
	7	.1		±0	0	2.1		0.8			
CI ₅₀ (ug/ ml)	984	58	109	177	28	162	155	377	199		

AAH: α-amilasa **AGH**: α-glucosidasa **NA**: No hay actividad