



Casa abierta al tiempo



INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA  
RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ

**Universidad Autónoma Metropolitana**  
**Unidad Xochimilco**

División de ciencias biológicas

Reporte de servicio social

**“Evaluación del efecto hipoglucemiante y antidepresivo de  
*Bauhinia divaricata L.*”**

**Asesor interno:** Dra. Julia Cassani Hernández

**Asesor externo:** Dra. Rosa Estrada Reyes

**Residente:** Jocelin Pamela Sánchez Duarte

**Matricula:** 2182035367

**Licenciatura:** Química Farmacéutica Biológica

---

Dra. Julia Cassani Hernández  
No económico: 2952. Departamento  
de Sistemas Biológicos

---

Dra. Rosa Estrada Reyes  
Ced.Prof.4488867. Dirección de  
investigación en neurociencias.  
Laboratorio de Fitofarmacología.

## INDICE

1. Introducción.....	1
2. Planteamiento del problema y justificación. ....	2
3. Objetivos.....	2
3.1 Objetivo general.....	2
3.2 Objetivos específicos. ....	2
4. Antecedentes.....	3
4.1 Generalidades del género <i>Bauhinia</i> .....	3
4.1.1 Características de <i>Bauhinia divaricata</i> L.....	3
4.1.2 Composición química.....	4
4.1.3 Aspectos farmacológicos .....	4
4.2 Diabetes Mellitus (DM).....	4
4.2.1 Modelos experimentales para generar diabetes .....	5
4.2.2 La estreptozotocina como modelo de Diabetes Mellitus en ratones.....	6
4.3 Aspecto Generales de la Depresión.....	6
4.4 Modelos de conducta en ratones.....	7
5. Material y métodos .....	9
5.1 Preparación de extractos de <i>Bauhinia divaricata</i> L.....	9
5.2 Animales de experimentación .....	9
5.3 Tratamientos.....	9
5.4 Evaluación de la conducta locomotora de roedores .....	10
5.4.1 Campo abierto.....	10
5.5 Evaluación de la actividad de tipo antidepresiva.....	10
5.5.1 Nado Forzado .....	10
5.5.2 Suspensión de cola.....	11
5.6 Evaluación del efecto hipoglucemiante.....	11
5.6.1 Tolerancia a la glucosa .....	11
5.6.2 Inducción de diabetes.....	12
5.6.2.1 Diseño experimental de diabetes mellitus.....	12
5.6.3 Sacrificio y toma de muestras. ....	13
5.6.4 Análisis Estadístico.....	13

6. Resultados.....	14
6.1 Cantidad de extracto obtenido.....	14
6.2 Cromatografía en capa fina .....	14
6.3 Evaluación de la actividad tipo antidepresiva .....	16
6.3.1 Nado forzado .....	16
6.3.2 Suspensión de cola.....	17
6.4 Evaluación de la actividad locomotora.....	19
6.5 Evaluación hipoglucemiante .....	20
6.5.1 Tolerancia a la glucosa .....	20
6.5.2 Diseño experimental de diabetes mellitus. ....	22
6.6 Toma de muestras y sacrificio de los ratones .....	30
6.6.1 Peso del órgano en relación al peso corporal.....	30
6.6.2 Nado forzado .....	31
6.6.3 Determinación de los niveles de glucosa, interleucina 1 $\beta$ y 6, corticosterona y TNF- $\alpha$ en plasma.....	32
7. Discusión.....	33
8. Conclusión .....	37
9. Referencias.....	38

## 1. Introducción.

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad metabólica que se caracteriza por presentar valores elevados de glucemia debido a la disminución total o parcial de la insulina en el organismo y/o resistencia a la misma. Las complicaciones de la DM son frecuentes, por lo tanto, es necesario la búsqueda de nuevos fármacos hipoglucemiantes efectivos y con menos efectos colaterales indeseables. El empleo de plantas con fines curativos se remonta a la prehistoria y continua en la actualidad, más del 80% de la población mundial utiliza cotidianamente plantas medicinales para tratar sus problemas de salud, es el caso de las especies del género *Bauhinia* (Fabaceae) conocidas popularmente como pata de vaca, orquídeas, etc. las cuales han sido tradicionalmente empleadas por diferentes comunidades de todo el mundo con fines medicinales, sus partes aéreas son utilizadas en forma de infusiones para tratar la diabetes mellitus, dolores, inflamación y entre otras, es por esto que el género tiene un prometedor potencial medicinal. Sin embargo, a pesar de su uso tradicional, la evidencia científica que apoye su efecto antiglucemiante es escasa. Por otro lado, otro problema de salud relacionado con la diabetes es la depresión, algunos estudios han descrito que personas con diabetes *mellitus* tienen predisposición a padecer trastornos del estado de ánimo. La depresión es el trastorno mental más frecuente en diabéticos; se considera que 1 de cada 3 pacientes con diabetes tienen depresión y, a su vez, el riesgo de tener un trastorno depresivo es 2 veces mayor que en la población general, en pacientes con diabetes puede superar el 40%, persiste y se vuelve recurrente con el tiempo. La depresión se ha considerado una consecuencia significativa de la diabetes, ya que aumenta la tasa de morbilidad y las complicaciones potencialmente mortales. También, se ha comprobado que los trastornos depresivos predisponen a padecer diabetes mellitus tipo 2.

Los estudios en animales resultan ser de gran ayuda en la comprensión de la patogénesis de los trastornos depresivos y del estado de ánimo, por lo que los modelos de comportamiento de roedores son útiles para analizar la posible acción antidepresiva y en el descubrimiento de nuevos fármacos.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficacia de un extracto de metanol de las partes aéreas de *Bauhinia divaricata* (L) H.B.K. ex Britt. Et Rose en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina, así como valorar un posible efecto antidepresivo en los modelos de suspensión de cola, nado forzado y campo abierto.

## **2. Planteamiento del problema y justificación.**

Actualmente la Diabetes Mellitus (DM) se considera una pandemia en aumento y representa una causa importante de discapacidad y muerte en casi todos los países. Es necesario aclarar que la DM es un trastorno endocrino multifactorial caracterizado por una alteración del metabolismo de la glucosa, lípidos y proteínas. Se han considerado a los fármacos como la piedra angular del tratamiento actual de la DM. Sin embargo, no todas las personas con diabetes presentan una respuesta satisfactoria a estas fuentes terapéuticas, por lo que tratamientos integrales incluyen dieta, ejercicio y cambios en los hábitos del paciente. A largo plazo la diabetes presenta complicaciones cardiovasculares, retinopatía diabética, e insuficiencia renal y en algunos casos amputaciones de extremidades. Así, la búsqueda de nuevos fármacos hipoglucemiantes, a partir de plantas utilizadas en la medicina tradicional para "bajar la azúcar" resulta importante. *Bauhinia divaricata*, es una planta la cual en la medicina tradicional se le ha atribuido dicho efecto. Sin embargo, no hay evidencia científica que sustente su efecto hipoglucemiante.

## **3. Objetivos**

### **3.1 Objetivo general.**

Comprobar la eficacia hipoglucemiante de un extracto metanólico de las partes aéreas de *Bauhinia divaricata* L en modelos de conducta en ratones, así como analizar su efecto antidepresivo.

### **3.2 Objetivos específicos.**

- Realizar una búsqueda exhaustiva sobre conceptos teóricos en la literatura científica.
- Extraer los compuestos bioactivos de la planta *Bauhinia divaricata*
- Inducir diabetes a ratones con estreptozotocina
- Evaluar el efecto hipoglucemiante en sangre periférica en ratones normal e hiperglucémicos tratados con un extracto de metanol de *Bauhinia divaricata*
- Evaluar el efecto de tipo antidepresivo en modelos de conducta en ratones

## 4. Antecedentes

### 4.1 Generalidades del género *Bauhinia*

El género *Bauhinia* comprende más de 300 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de América, África, Asia y Oceanía, cerca de 50 especies se encuentran en México y Centroamérica, varias de ellas endémicas, destacando: *Bauhinia forficata*, *Bauhinia tomentosa*, *Bauhinia natalensis*, *Bauhinia augusti*, *Bauhinia purpurea*, *Bauhinia blakeana* (Lara, 2018).

#### 4.1.1 Características de *Bauhinia divaricata* L

Aspectos taxonómicos		
Familia: Fabáceae (leguminosas)	Subfamilia: Caesalpinioideae	Género: <i>Bauhinia</i> L

También conocida como: pata de cabra, pata de res, pata de vaca, pata de venado y pie de cabra (Rzedowski,1997). Es un árbol perteneciente a la familia de las Fabáceas (Leguminosas) caracterizada por presentar una altura cercana a los 6-8 m. Las hojas usualmente son lobuladas de 10-15 cm de ancho; las ramas son arqueadas y pendientes; follaje ralo, hojas alternas, caducas, con dos folíolos unidos a partir de un borde interno (dando un aspecto bilobulado) y con dos aguijones curvados en las axilas foliares (Lara, 2018).

Presenta flores hermafroditas, el androceo posee no más de diez estambres, son grandes de color blanquecino, tienen el cáliz espatáceo y los pétalos unguiculados de color blanco, rojo, violeta, verde, amarillo y rosado. Su fruto consta de una legumbre, con semillas negras, brillantes y aplanadas en su interior. Las especies de *Bauhinia* tienen un importante potencial ornamental por lo atractivo de sus flores y también se les atribuyen propiedades medicinales, alimenticias y maderables (Lara, 2018).



**Figura 1.** Ilustración de *Bauhinia divaricata* L. Burkhardt (1943)

### **4.1.2 Composición química**

Los estudios fitoquímicos en este género han sido a partir de las partes aéreas en las que se han encontrado una serie de metabolitos, entre ellos: saponinas, taninos, terpenoides, trazas de fenoles y alcaloides, antocianinas, esteroides ( $\beta$ -fitoesterol), glucósidos esteroidales (xilopiranosido, ribofuranosido del clionasterol), proteína (0.59%), minerales (potasio, calcio, hierro, magnesio, zinc y cobre), flavonas, flavanonas; la mayoría de las actividades se atribuyen a los flavonoides (quercetina, kaempferitina y o derivados de miricetina) (Lara, 2018).

### **4.1.3 Aspectos farmacológicos**

Se conoce muy poco respecto a la actividad farmacológica de este género, frecuentemente ha sido estudiado debido a su posible acción hipoglucemiante, ya que es utilizada en la medicina popular en el tratamiento de la diabetes mediante su consumo en forma de infusiones. En Brasil existen estudios para las especies *B. forficada*, *B. microstachya*, *B. variegata* como antidiabético, por otra parte, en Argentina la especie *B. argentinensis* Burkart se emplea para tratar la diabetes y dolencias hepáticas y renales, al igual en Chile la especie *B. candicans* se utiliza para el control de la diabetes (Lara, 2018)

Se ha descrito que *B. divaricata* se emplea en Puebla, Quintana Roo y Yucatán para curar la disentería y la diarrea, también para tratar bronquitis, asma, la colitis y la mordedura de víbora. Otros efectos farmacológicos que se han reportado y comprobado en algunas de sus especies son: antifúngicos, antimaláricos, antioxidantes, antibacterianos, analgésicos y antiinflamatorios.

Hasta el momento los efectos del extracto se han evaluado principalmente en modelos murinos diabéticos inducidos por estreptozotocina y aloxan. En un estudio evaluaron el extracto de las hojas secas de *B. divaricata* en ratas, en este estudio los resultados indican que favorece la relajación dependiente de endotelio en anillos de aorta en ratas diabéticas inducidas con aloxan, dado los resultados la planta puede resultar de gran utilidad en la prevención de complicaciones vasculares asociadas a la diabetes (Camile et al., 2018).

## **4.2 Diabetes Mellitus (DM)**

Padecimiento metabólico que representa una de las problemáticas de la salud mundial, esta enfermedad se encuentra entre las 10 principales causas de muerte a nivel mundial. De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (IDF) que calcula que alrededor de 425 millones de personas (20-79 años) en todo el mundo padecen algún tipo de DM. México ocupa el quinto lugar entre los 10 países con mayor incidencia de esta enfermedad con 12 millones de personas diagnosticadas (Angeles, 2019)

DM es una condición patológica en la que predomina un aumento del nivel de glucosa en sangre lo que conlleva a un desorden metabólico de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, como consecuencia de los trastornos metabólicos, el paciente diabético suele presentar polifagia, poliuria, polidipsia, somnolencia, cansancio, visión borrosa, mareos e insomnio; y en casos crónicos sufre pérdida de peso, insuficiencia renal, pérdida de la visión, arterosclerosis, problemas circulatorios, gangrena (Pérez et al., 2006). En el 2011, la Federación Internacional de Diabetes reportó que en ese momento cerca de 336 millones de personas sufrían la enfermedad, la cual además de provocar aproximadamente 4.6 millones de fallecimientos cada año, disminuye considerablemente la calidad y la expectativa de vida de los pacientes (Bequer et al., 2016).

Este padecimiento se clasifica en dos tipos: tipo 1 (DMT1) es un desorden autoinmune en el cual hay destrucción de las células  $\beta$  del páncreas con caída de la producción endógena de insulina, como resultado el organismo produce poca o ninguna insulina, lo que provoca una deficiencia relativa o absoluta de dicha hormona; la susceptibilidad a este tipo de DM está influenciada por factores tanto genéticos como ambientales, además los enfermos que padecen DM1 son insulino dependientes; es decir, necesitan de la administración exógena de insulina para preservar la vida, por su parte la de tipo 2 (DMT2) es un desorden metabólico crónico, está caracterizada por el desarrollo progresivo de resistencia a la insulina en el hígado y los tejidos periféricos asociada a la disminución en la secreción de la hormona por parte de las células  $\beta$  pancreáticas, este tipo de diabetes resulta ser la más frecuente debido a que el 90% de los pacientes la padecen ya que se le asocia regularmente con la obesidad es por ello que las personas con diabetes de tipo 2 tienen un alto riesgo de complicaciones cardiovasculares, neurológicas y microvasculares ( Cuña et al., 2020).

La DM al ser una enfermedad crónico-degenerativa, ocasiona complicaciones agudas las cuales deterioran la calidad de vida de quienes la padecen, sin embargo, en la actualidad existe una amplia gama de medicamentos antidiabéticos con el objetivo de aliviar los síntomas, mantener el control metabólico, prevenir las complicaciones, mejorar la calidad de vida y reducir la mortalidad (Angeles,2019).

#### **4.2.1 Modelos experimentales para generar diabetes**

En la última década ha habido una 'explosión' de información científica sobre los factores genéticos y ambientales que desencadenan los mecanismos bioquímicos involucrados en la enfermedad de la diabetes, así como sobre las complicaciones y los tratamientos. En este sentido, los modelos biológicos en animales desempeñan un papel fundamental en el estudio de los mecanismos fisiopatológicos y en la evaluación de las estrategias de diagnóstico y tratamiento que limiten el desarrollo de la enfermedad y sus complicaciones (Bequer et al.,2016).

Los modelos animales de diabetes pueden ser una herramienta valiosa en dicha búsqueda ya que reproducen varias de las manifestaciones clínicas de la diabetes humana. Estos



modelos se clasifican en espontáneos e inducidos. Entre los espontáneos se encuentran los análogos y los intrínsecos mientras que los inducidos son secundarios a la administración de fármacos u hormonas. El modelo de diabetes inducido por estreptozotocina (STZ) en roedores ha sido uno de los más usados (Díaz et al., 2007).

#### **4.2.2 La estreptozotocina como modelo de Diabetes Mellitus en ratones**

La DMI en humanos se caracteriza por una destrucción específica de las células  $\beta$  pancreáticas, comúnmente asociada con daño mediado por el sistema inmune. Aunque el daño puede ocurrir de forma silenciosa a lo largo de muchos años, en la presentación clínica hay poca masa celular  $\beta$  superviviente y el trastorno avanza a insulinopenia. La STZ es un derivado de la nitrosourea aislado de *Streptomyces achromogenes* con actividad antibiótica y antineoplásica de amplio espectro. Es un potente agente alquilante que ha demostrado interferir con el transporte de glucosa, tiene función de glucocinasa e induce múltiples roturas de cadenas de DNA. Una única dosis concentrada de STZ puede producir diabetes en roedores, probablemente como resultado de efectos tóxicos directos. En los roedores susceptibles esto induce una diabetes insulinopenia en la que la destrucción inmunológica juega un papel, como en la DM1 humana. El modelo de dosis múltiples de SZT en dosis bajas se ha utilizado ampliamente para estudiar las vías inmunológicas que conducen a la insulinitis; resulta ser un evento patológico que precede a la diabetes de tipo 1, en el que las células inmunes infiltran los islotes, llevando a la destrucción progresiva de las células beta pancreáticas productoras de insulina (González et al., 2022). Sin embargo, el agente producirá diabetes incluso en ausencia de células T y B funcionales (Rees et al., 2005).

#### **4.3 Aspecto Generales de la Depresión.**

La depresión es un trastorno de salud mental, que se caracteriza por la pérdida del interés de las actividades diarias como dormir, comer, trabajar, así como de pensamientos y actos negativos; es decir puede causar síntomas graves que afectan la funcionalidad de los individuos. Se debe diferenciar de la tristeza que es una respuesta humana universal a la frustración, desilusión u otras adversidades. La depresión patológica es una tristeza sin razón aparente que la justifique, y además grave y persistente afecta la vida afectiva, cognitiva, conductual y somática de la persona, puede ser originada por problemas laborales, sociales y/o académicos que dan como consecuencia la afectación de la calidad de vida, sin embargo, se desconoce la causa exacta (Martínez et al., 2022).

Como lo ha descrito la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades mentales han aumentado a nivel mundial, siendo estas la principal causa de discapacidad y muerte prematura (OMS, 2022). El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) presentó los resultados de la Primera Encuesta Nacional de Bienestar Autor reportado (ENBIARE) realizadas en todo el territorio nacional, con el fin de dar a conocer que dentro de la población adulta el 15.4% sufre síntomas de depresión y un porcentaje mayor del 19.5% se adjudica solo a las mujeres (INEGI, 2021).

#### **4.4 Modelos de conducta en ratones.**

Los estudios en animales en los últimos años han logrado grandes avances en la comprensión de la patogénesis de los trastornos depresivos y del estado de ánimo. Entre estos, los modelos de comportamiento de roedores son útiles para analizar la posible acción antidepressiva, además de ayudar en la búsqueda de nuevos fármacos. Entre todos los modelos animales, la prueba de natación forzada (FST), suspensión de cola (TST) son las herramientas más utilizadas para la detección de sustancias que pueden tener efectos de tipo antidepressivos en ratas y ratones (Krishnan et al., 2012).

- **Nado forzado**

Propuesto originalmente por Porsolt, Antón, Blavet y Jalfre en 1977, validado tanto en ratas como en ratones (Cryan et al., 2005).

Es uno de los modelos animales más utilizados para medir la actividad antidepressiva. En el transcurso de la prueba, el animal experimental va adoptando una conducta de inmovilidad que para Porsolt reflejaba un desánimo conductual al cual denominaba "desesperanza aprendida" entendida como aquella pauta conductual en la que los animales abandonan sus intentos de lucha y escape para resolver una situación de conflicto. Se tiene así una analogía que podría asemejarse a la depresión humana, la cual es una situación de abandono (Concepción, 1993).

La prueba consiste en introducir a los ratones en un tanque cilíndrico de 21 cm de altura y diámetro de 14.5 cm, que contiene 15 cm de agua a  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ . Todos los animales son obligados a nadar durante un período de 15 minutos (pre-prueba), seguido de una sesión de 5 minutos (prueba) 24 h después y el tiempo total de inmovilidad se mide en segundos. Se le llama inmovilidad cuando el animal apenas y realiza los mínimos movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua (Estrada Reyes et al., 2015)

El tiempo de inmovilidad se reduce con fármacos antidepressivos clínicamente efectivos, debido a esto se concluyó que la inmovilidad es selectivamente sensible a los tratamientos antidepressivos, por lo que dicho modelo ahora se usa ampliamente para detectar nuevas sustancias con actividad antidepressiva (Concepción, 1993).

- **Suspensión de cola**

La prueba de suspensión de cola se ha convertido en uno de los modelos más utilizados para evaluar la eficacia de los tratamientos farmacológicos antidepressivos en ratones. Se basa en el hecho de que los animales sometidos al estrés ineludible a corto plazo de ser suspendidos por su cola, intentan escapar de forma innata de esta aversiva situación mediante la realización de movimientos vigorosos; sin embargo, después de varios intentos fallidos y de no lograr escapar, desarrollarán una postura inmóvil (desesperanza); varios fármacos antidepressivos al igual que en la prueba de nado forzado disminuyen la duración

de inmovilidad y promueven la aparición de comportamientos relacionados con el escape (Cryan et al., 2005).

Los ratones son suspendidos a 50 cm por encima de la superficie mediante cinta adhesiva colocada aproximadamente a 1 cm de la punta de la cola. Cada ratón está suspendido durante un total de 6 minutos, y la duración de la inmovilidad se registró durante el intervalo final de 4 minutos de la prueba. En esta prueba, el comportamiento de inmovilidad se considera solo cuando el ratón permanece pasivamente colgado y completamente inmóvil (Estrada Reyes et al., 2015).

- **Campo abierto**

En los estudios originales de Hall en 1934, la prueba de campo abierto fue utilizada para medir la conducta de los roedores en un ambiente novedoso en el cual no tienen forma de escapar (Suárez, 1981).

La prueba de campo abierto es una prueba utilizada para evaluar la actividad ambulatoria, mediante la evaluación de la motricidad (coordinación y fuerza) y locomoción (desplazamiento), en una caja cuadrada de plexiglás cuyas medidas son 40 x 30 x 20 cm, la cual tiene 12 divisiones iguales de 11 x 11 cm, en el piso y cuya altura impide la salida o escape del roedor. La duración de la prueba es de 5 minutos, y durante este periodo de tiempo lo que se observa es la conducta exploratoria vertical (Número de paradas, lo que se refiere al número de veces en que los ratones se paran sobre sus patas posteriores y la locomoción (número de cruces; cantidad de veces que el ratón camina entre cuadrantes). En estudios realizados la evaluación de la coordinación y del desplazamiento ha demostrado ser de utilidad para estudiar los posibles efectos secundarios o inespecíficos de los tratamientos farmacológicos en estudio (Estrada Reyes et al., 2015)

## **5. Material y métodos**

### **5.1 Preparación de extractos de *Bauhinia divaricata* L.**

El material vegetal utilizado en este estudio consistió en las partes aéreas de *Bauhinia divaricata*. Se pesaron 300 g para la obtención de 3 extractos (hexano, acetato de etilo, metanol). Tanto hojas como tallos fueron pulverizados y secados, mismos que se colocaron en un frasco de vidrio al cual se le añadió el 100 % de los disolventes (500mL). En el caso del extracto hidroalcohólico se pesaron 100 g de las partes aéreas de la planta y se añadió etanol: agua (70:30). Los 4 extractos se dejaron macerar a temperatura ambiente durante una semana, pasado el tiempo de macerado se filtró la solución y se pasó por el rotavapor para eliminar la mayor cantidad de disolventes del extracto. Posteriormente se pasó a un frasco previamente tarado el cual se dejó por 7 días a temperatura ambiente. Para conocer el peso del extracto obtenido, se pesó nuevamente el contenedor al cual se le restó el valor del frasco tarado.

### **5.2 Animales de experimentación**

Se utilizaron ratones Swiss Webster machos de 2 meses de edad, con un peso de 20-35 gr, originarios del bioterio de la División de Investigación en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, dichos roedores tenían libre acceso al alimento y agua durante todos los experimentos y se trataron de acuerdo con la Norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Los animales se alojaron en jaulas de policarbonato transparente (27 cm x 17 cm x 15 cm), de 8 a 10 ratones por jaula, en una habitación con temperatura y humedad controlada (20–21 °C), bajo ciclo de luz luz-oscuridad invertida (12:12h).

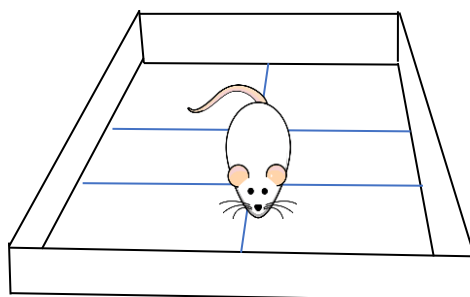
### **5.3 Tratamientos**

Para la preparación de las dosis a administrar se tomaron 5 g del extracto de metanol y se disolvieron en 10 mL de solución salina al 0.9 % y con 7 gotas de Tween 80, así obteniendo una concentración final de 500 mg/kg; de aquí se partió para la obtención de las dosis de 10, 50, 100, 200 mg/kg. Para la evaluación de tipo antidepressiva como control positivo se utilizó de referencia Clomipramina (CLO) a dosis de 2.5, 5 y 10 mg/kg, administrado por vía intraperitoneal (IP), así mismo se utilizó solución salina al 0.9 % como control (CTL). Para el efecto hipoglucemiante como control positivo se utilizó Glibenclamida (GLI) a una sola dosis de 15 mg/kg por vía IP y se utilizó Buffer de citrato 0.1M a pH 4.5 tanto para el control sano (CTLS) como para el control diabético (CTLD). Cabe mencionar que solo se evaluaron las dosis de 100 (DEX1) y 200 (DEX2) del extracto. El tiempo de latencia para los controles, el extracto, CLO y GLI fue de 30 min y después de la primera administración se inició la prueba correspondiente.

## 5.4 Evaluación de la conducta locomotora de roedores

### 5.4.1 Campo abierto

Se colocó sobre una mesa una caja de policarbonato transparente de 45 x 45cm dividida en 6 cuadrantes, posteriormente se colocaron los ratones individualmente en el centro de la caja, se contabilizaron manualmente los siguientes parámetros: número de cuentas o número de veces que el ratón camina entre cuadrantes (NC) y número de paradas o número de veces en que los ratones se paran sobre sus patas posteriores (NP) durante 5 minutos con ayuda de un contador diferencial manual de 6 teclas y al finalizar cada prueba se limpió la caja con una solución de agua/alcohol.

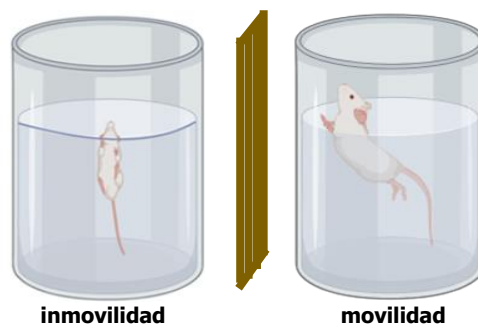


**Figura 2.** Representación ilustrativa de la prueba de campo forzado.

## 5.5 Evaluación de la actividad de tipo antidepresiva

### 5.5.1 Nado Forzado

Los ratones fueron colocados individualmente en cilindros de vidrio (altura: 21 cm, diámetro; 14,5 cm), los cuales contenían 15 cm de agua a  $24 \pm 1$  °C. Todos los animales pasaron anteriormente la pre-prueba al nadar durante un período de 15 min, 24 h después se realizó la prueba con una duración de 5 min. Se registró el tiempo total de inmovilidad el cual fue medido en segundos con ayuda de un cronómetro. Una vez finalizada la prueba, los ratones fueron retirados del cilindro y se secaron cuidadosamente, posteriormente se colocaron en sus jaulas. Todas las sesiones experimentales fueron grabadas en video.



**Figura 3.** Representación ilustrativa de la prueba de nado forzado

### 5.5.2 Suspensión de cola

Los ratones fueron colocados cuidadosamente en un palo de madera con ayuda de cinta adhesiva, tomando un 1 cm desde la punta de la cola, dicho palo está apoyado en 2 soportes universales y elevado a una distancia de 50 cm. La prueba duro un total de 6 min por ratón. Se registro el tiempo de inmovilidad en segundos, el comportamiento de inmovilidad se registró cuando el ratón se quedó suspendido en el aire sin realizar ningún movimiento de lucha/huida. Después de la prueba todos los ratones se regresaron a sus jaulas de origen. Todas las sesiones experimentales fueron grabadas en video.

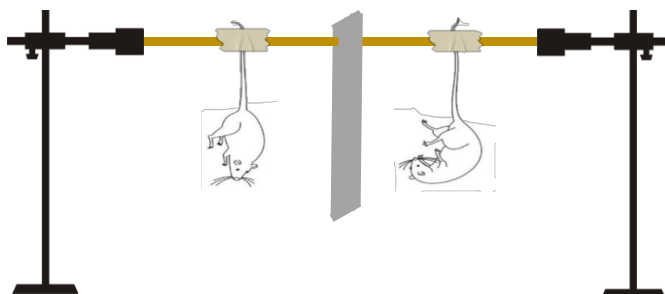


Figura 4. Representación ilustrativa de la prueba de suspensión de cola.

## 5.6 Evaluación del efecto hipoglucemiante

### 5.6.1 Tolerancia a la glucosa

Se formaron 5 grupos de 5 ratones y cada grupo recibió un tratamiento diferente (VEH, Glibenclamida 15 mg/kg, extracto de metanol a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg). Los ratones se dejaron en ayuno durante 4 horas, transcurrido el tiempo se midió la glucosa basal tomando una pequeña muestra de sangre extraída de la cola del ratón la cual se colocó en una tira reactiva del glucómetro One Touch Ultra, después se administraron los tratamientos correspondientes por vía IP, en seguida se le suministró a cada ratón un bolo de glucosa 2g/kg por vía oral con una sonda orogástrica. La concentración de glucosa en sangre fue monitoreada con ayuda del glucómetro a los 15, 30, 60 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

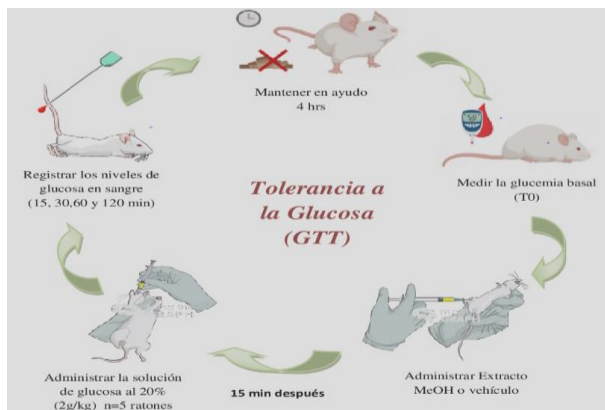


Figura 5. Procedimiento de la prueba de tolerancia a la glucosa

## 5.6.2 Inducción de diabetes

El estado hiperglucémico en los ratones se indujo mediante la administración de 100 mg/kg de SZT disuelta en 0.1 M de solución de citrato (pH 4.5) por vía intraperitoneal, antes de la administración de STZ se midió la glucosa basal a todos los ratones con tiras reactivas del glucómetro One Touch Ultra. Posteriormente transcurridas 72 h después de la inducción se confirmó la diabetes mediante la medición de la glucosa con muestras de sangre extraídas de la porción distal de la cola, se consideraron diabéticos aquellos que superaron los 180 mg/dL de glucosa sanguínea y fueron integrados en los grupos experimentales (**Nota:** los ratones que mostraron glucosas <180 mg/dL recibieron una segunda dosis de STZ).

### 5.6.2.1 Diseño experimental de diabetes mellitus

Se utilizaron 36 ratones que se dividieron en 5 grupos de 7-8 ratones cada uno y fueron sometidos a un tratamiento durante 28 días, una sola vez por día mediante vía IP.

**Tabla 1.** Grupos experimentales y tratamientos.

Grupo	SZT	Tratamiento	No ratón
CTLS	No	Buffer Citrato	7
CTLD	Recibido	Buffer Citrato	7
CTL-positivo	Recibido	Glibenclamida 15 mg/kg	8
DEX1	Recibido	Extracto de metanol 100 mg/kg	8
DEX2	Recibido	Extracto de metanol 200 mg/kg	7

Información sobre los diferentes grupos experimentales y sus respectivos tratamientos; control sano (CTLS), control diabético (CTDL), el control positivo (CTL-positivo), grupo diabético que recibió la dosis de 100 del extracto (DEX1) y grupo diabético que fue tratado con la dosis de 200 (DEX2).

Se realizó seguimiento diario del peso corporal, así como también se determinó la cantidad de agua y alimento consumida diariamente. Estas mediciones realizadas en los diferentes grupos permitieron observar el comportamiento y estado de los animales.

**Nota:** De lunes a viernes la cantidad de alimento fue de 150 g con 450 mL de agua, mientras que el fin solo se aumentó la porción de alimento a 300 g.

Para evaluar el efecto hipoglucemiante se determinaron las glucemias los días 7,14,21 y 28 de tratamiento con tiras reactivas del glucómetro One Touch Ultra a partir de muestras de sangre extraídas de la vena de la cola de los ratones. Una vez transcurridos los 28 días los ratones fueron expuestos a la prueba de nado forzado.

### **5.6.3 Sacrificio y toma de muestras.**

Después de 28 días de tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante eutanasia por decapitación para medir diferentes parámetros. La sangre obtenida de cada ratón se recolectó en tubos Eppendorf de 2 mL, los tubos previamente rotulados se llevaron a centrifugar a 8050 g durante 15 min en una microcentrífuga refrigerada (SMART R17), se extrajeron 30 µL del plasma por triplicado de cada ratón y se colocaron en tubos eppendorf de 1 mL para posteriormente obtener los niveles la Glucosa, Corticosterona, Interleucina (IL-1β) y TNF-α mediante la prueba de ELISA utilizando kits de diagnóstico específicos. Posteriormente se realizó la disección de hígado, bazo, estómago y ambos riñones, el estómago fue lavados con solución fisiológica (0,85%). Se pesó cada órgano en una balanza analítica (0,0001g) con el objetivo de determinar las diferencias en el peso de los órganos (PO) en relación con el peso corporal (PC).

El peso relativo de los órganos se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Peso relativo} = \frac{\text{Peso del organo (g)}}{\text{Peso corporal el dia del sacrificio (g)}}$$

### **5.6.4 Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron con el módulo de análisis del programa Sigma-Plot Versión 12.3. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía o de Kruskal-Wallis basado en el rango, seguido de la prueba U de Mann-Whitney para valorar las diferencias entre tratamientos. Se consideró que existían diferencias significativas cuando  $p < 0.05$ . Los valores graficados corresponden a la media aritmética de cada grupo y la barra de error al error estándar.



## 6. Resultados

### 6.1 Cantidad de extracto obtenido

Como se muestra en la **Tabla 2** se obtuvieron mayores rendimientos de los extractos de metanol (6.1 %) y del hidroalcohólico (12.3 %), comparados con un menor rendimiento de los extractos de hexano y de acetato de etilo.

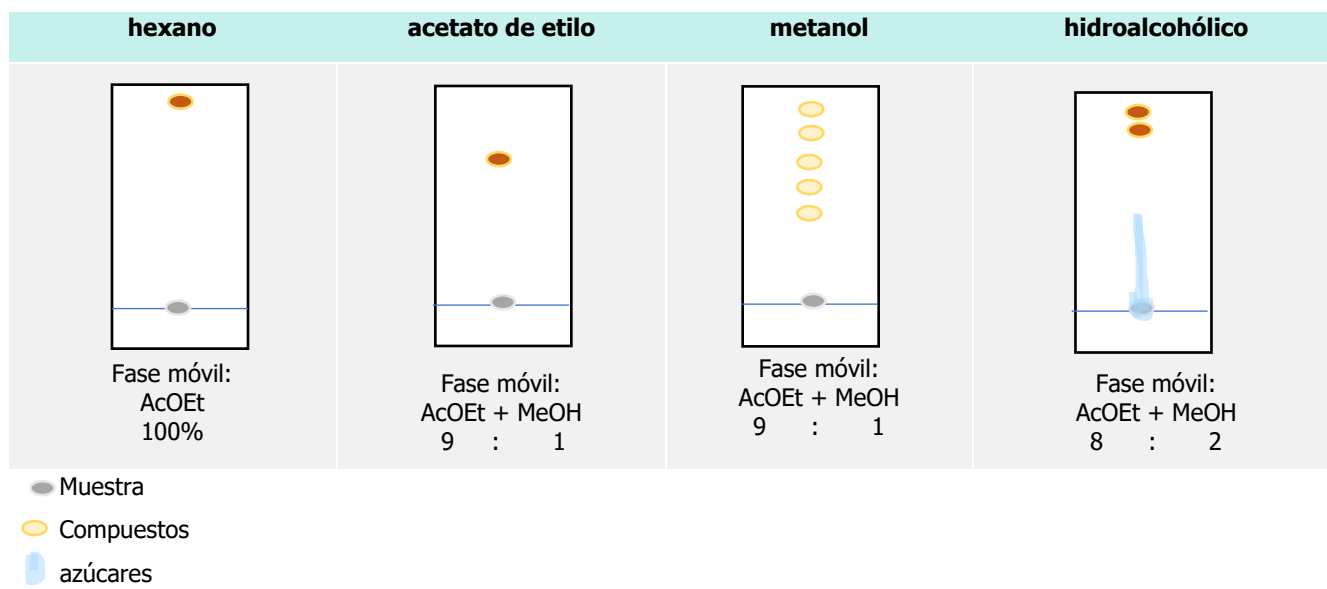
**Tabla 2.** Porcentaje de los extractos obtenidos.

Extracto	material vegetal (g)	extracto obtenido (g)	% de rendimiento
Hexano	300	7.7	2.5
Acetato de etilo	300	3.3	1.1
Metanol	300	18.5	6.1
Hidroalcohólico	100	12.3	12.3

### 6.2 Cromatografía en capa fina

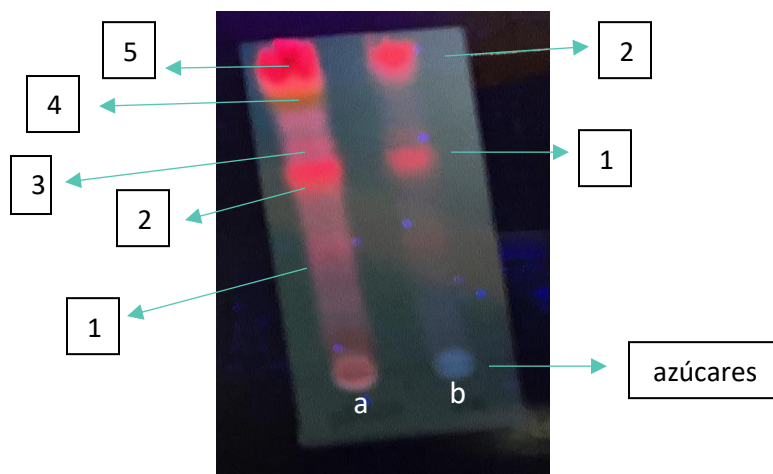
Se realizó la identificación y separación de compuestos de cada uno de los extractos a través de la cromatografía en capa fina. En la **Tabla 3** se observan las placas donde hubo mejor separación de los compuestos.

**Tabla 3.** Cromatografías en capa fina de los diferentes extractos.

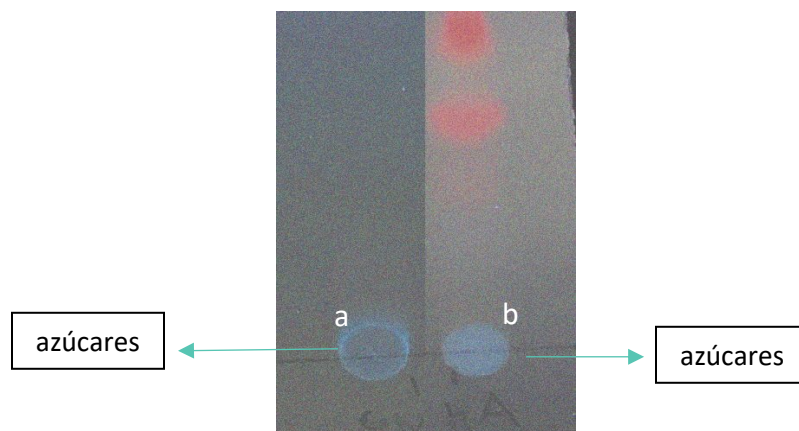


Con base a los resultados que se mostraron anteriormente se decidió realizar una comparación entre el extracto hidroalcohólico y metanólico para seleccionar el extracto con el cual se evaluaría el efecto farmacológico de tipo antidepresivo e hipoglucemiante en animales.

Como se muestra en la **Figura 6** en el caso del extracto metanólico se aislaron más compuestos, además se observó la posible presencia de flavonoides por el color amarillo al ser revelado con luz UV, el cual resulta ser característico de dicho compuesto. Por otra parte, con respecto al extracto hidroalcohólico no se separó gran cantidad de compuestos. Sin embargo, como se observa en la **Figura 7** el extracto hidroalcohólico a diferencia del extracto de metanol muestra la presencia de azúcares, esto se comprobó al realizar una CCF con la referencia de glucosa.



**Figura 6.** Cromatografía en capa fina del a) Extracto de metanol (Extra.MeOH) e b) Hidroalcohólico (HA) donde se empleó como fase móvil: Acetato de etilo: Metanol (90:10), revelados con luz UV.



**Figura 7.** Cromatografía en capa fina de la referencia de a) Glucosa (GLU) y del b) Extracto Hidroalcohólico (HA), se empleó como fase móvil: Acetato de etilo: Metanol (80:20), revelados con luz UV.

Una vez analizado los resultados se decidió estudiar el posible efecto farmacológico del extracto de metanol, esto se debió a la cantidad de compuestos que se observaron en la cromatografía de capa fina.

## 6.3 Evaluación de la actividad tipo antidepresiva

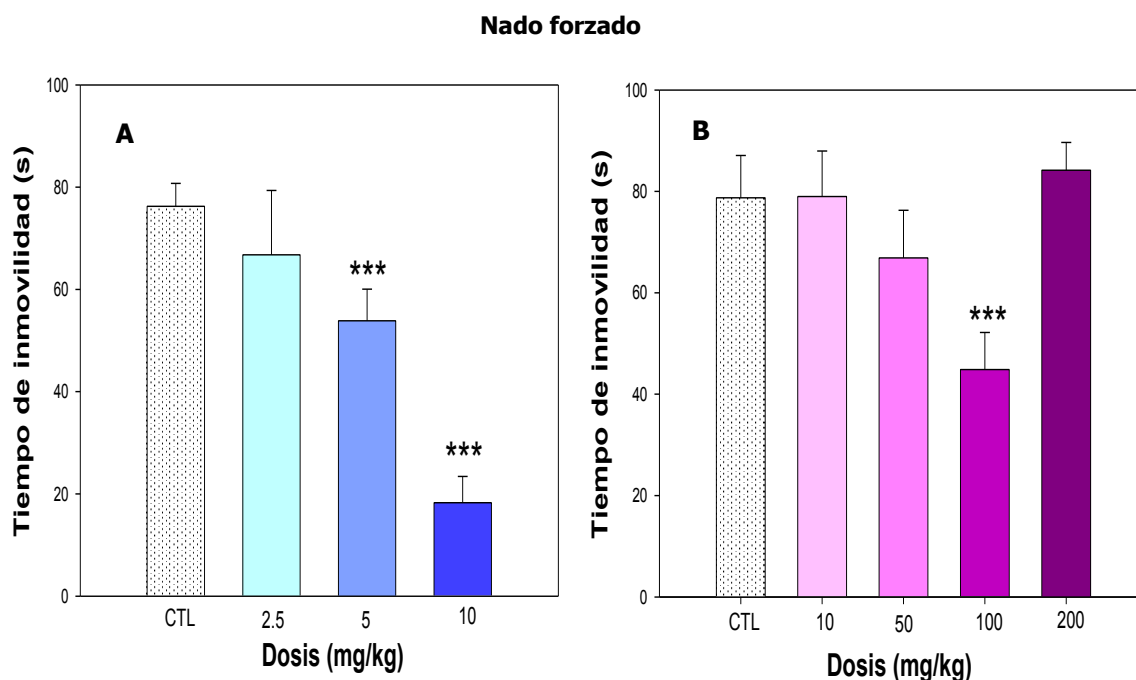
### 6.3.1 Nado forzado

Como se observa en la **Figura 8A** la administración de 2.5 mg/kg del fármaco de referencia clomipramina (CLO) no produjo un efecto significativo en el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado, lo que significa que no existe diferencia con respecto al grupo control, mientras que las dosis de 5 y 10 mg/kg indujeron una notable disminución en el tiempo de inmovilidad de los ratones durante la prueba de manera dosis-dependiente ( $H=17.794$ ,  $gl=3$ ,  $p\leq 0.001$ ) (**Tabla 4**), dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el grupo tratado con vehículo.

Respecto a la evaluación del Extracto de metanol (Extra.MeOH), en la **Figura 8B** se puede observar que no existe un efecto de tipo antidepresivo en las dosis de 10, 50 y 200 mg/kg, debido a que no hubo una disminución en el tiempo de inmovilidad, por lo que no existe diferencia significativa al compararse con el control. Por otro lado, el grupo tratado con una concentración de 100 mg/kg muestra un tiempo de inmovilidad significativamente menor en comparación con los demás grupos y con el control ( $H=18.907$ ,  $gl= 4$ ,  $p\leq 0.001$ ) (**Tabla 4**). De igual manera, se puede observar que en la medida que aumenta la concentración del extracto, dicho efecto se pierde como en el caso del grupo tratado con la dosis de 200 mg/kg, ya que muestra valores superiores en comparación con los demás grupos e incluso ligeramente superiores al grupo control.

**Tabla 4.** Efecto de tipo antidepresivo del extracto de metanol de *B. divaricata* y de clomipramina en la prueba de nado forzado

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Tiempo de inmovilidad (s)
CLO	CTL	74.057 ± 2.72
	2.5	67.882 ± 4.68
	5	54.042 ± 2.45 ***
	10	15.650 ± 3.17 ***
<b>H = 17.794, gl=3, p≤0.001</b>		
Extra.MeOH	CTL	74.05 ± 2.72
	10	79.55 ± 3.43
	50	65.88 ± 4.24
	100	44.05 ± 3.31 ***
	200	82.39 ± 2.97
<b>H=18.907, gl= 4, p≤0.001</b>		



**Figura 8.** Efecto antidepresivo de A) CLO a dosis de 2.5, 5, 10 mg/kg y B) Extra.MeOH a concentraciones de 10, 50, 100, 200 mg/kg, en la prueba de nado forzado. Las barras representan el error estándar medio de la media, los datos se expresan como la media  $\pm$  SEM (n= 6). Las diferencias entre grupos detectadas con el análisis de varianza no paramétrica de una sola vía, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  y \*\*\* $p \leq 0.001$ , significativamente diferente del control.

### 6.3.2 Suspensión de cola

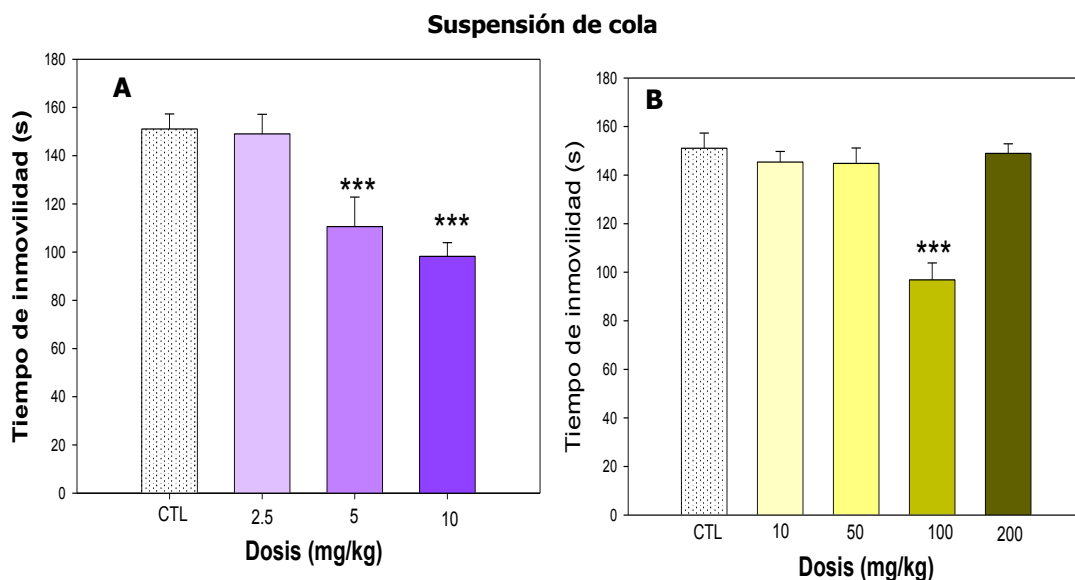
La **Tabla 5** muestra los resultados del análisis descriptivo del tiempo de inmovilidad en la prueba de suspensión de cola. Los grupos tratados con CLO a concentraciones de 5 y 10 mg/kg tuvieron un mayor efecto, ya que se observó en ambos grupos una reducción significativa en el tiempo de inmovilidad ( $F_{(3,20)} = 52.705$ ,  $p \leq 0.001$ ) en comparación a los ratones tratados con la dosis de 2.5 mg/kg, la cual no redujo la inmovilidad en la prueba de suspensión de cola en comparación con el CTL (**Figura 9A**).

En el caso de los grupos tratados con el Extra. MeOH los resultados indican que la dosis de 100 mg/kg fue la de mayor efecto ya que causó una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad en relación al grupo control ( $F_{(4,25)} = 80.12$ ,  $p \leq 0.001$ ). Sin embargo, la dosis de 10, 50 y 200 mg/kg muestra no tener efecto, ya que no disminuyeron significativamente el tiempo de inmovilidad, lo cual indica una mayor similitud al grupo tratado con solución salina.

**Tabla 5.** Efecto antidepresivo del extracto de metanol de *B. divaricata* y clomipramina evaluada en la prueba de suspensión de cola.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Tiempo de inmovilidad (s)
<b>CLO</b>	VEH	150.61 ± 2.74
	2.5	146.65 ± 4.28
	5	113.20 ± 3.92 ***
	10	94.97 ± 3.64 ***
		<b>F(3,20)= 52.705, p≤ 0.001</b>
<b>Extra. MeOH</b>	VEH	150.61 ± 2.74
	10	145.61 ± 1.689
	50	145.35 ± 2.381
	100	94.74 ± 3.696 ***
	200	146.36 ± 2.145
		<b>F(4,25)=80.12, p≤ 0.001</b>

Efecto farmacológico de CLO a 2.5,5 y 10 mg/kg por vía IP y Extra. MeOH a diferentes dosis (50,100 y 200 mg/kg) en la prueba de suspensión de cola. Los resultados se expresan como promedio ± SEM de 6 animales mediante un análisis de varianza de una sola vía, seguido de la prueba U de Mann-Whitney.



**Figura 9.** Efecto antidepresivo de A) CLO a dosis de 2.5,5 10 mg/kg y B) Extra. MeOH en las dosis de 10, 50, 100, 200 mg/kg, en la prueba de suspensión de cola. Las barras representan el error estándar medio de la media. Las comparaciones fueron analizadas por análisis de varianza de una sola vía. \*p≤0.05, \*\*p ≤0.01 y \*\*\*p ≤0.001, significativamente diferente del control.

## 6.4 Evaluación de la actividad locomotora

Para excluir un efecto sobre la inmovilidad debido a efectos secundarios inespecíficos de CLO y del Extra. MeOH sobre la actividad locomotora, se evaluó la actividad ambulatoria de los ratones en la prueba de campo abierto. Los resultados mostraron que los niveles de deambulaci3n de los animales tratados con CLO a dosis 2.5, 5 y 10 mg/kg fueron similares a los observados en el CTL, es decir no hubo diferencia significativa (**Tabla 6**), por lo que se descarta la presencia de alg3n efecto secundario adverso. Por otro parte, estos datos indican y garantizan que los efectos de la clomipramina sobre el comportamiento de inmovilidad en la prueba de nado forzado no se deben a un aumento en la actividad ambulatoria.

En el caso de los animales tratados con Extra. MeOH a dosis de 200 mg/kg se observ3 una disminuci3n significativamente en el n3mero de cuentas y paradas con respecto al CTL, mientras que las dosis de 10, 50 y 100 mg/kg fueron similares al control.

**Tabla 6.** Efectos de CLO y Extra.MeOH en prueba en campo abierto.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	No. cuentas	No. Paradas
<b>CTL</b>	0.9% sol. Salina	64.16 ± 2.00	20.83 ± 1.16
	2.5	59.83 ± 2.49	18.00 ± 1.96
	5	58.00 ± 1.65	17.00 ± 1.46
	10	58.66 ± 2.82	17.66 ± 1.706
		<b>F<sub>(3,20)</sub> = 1.46, p = 0.25</b>	<b>F<sub>(3,20)</sub> = 1.11, p = 0.36</b>
<b>VEH</b>	0.9% sol. Salina	64.16 ± 2.00	20.83 ± 1.16
	10	65.33 ± 3.34	20.667 ± 0.803
	50	60.00 ± 2.54	19.833 ± 1.352
	100	61.66 ± 3.21	21.000 ± 0.856
	200	39.16 ± 3.30 ***	10.833 ± 1.470 ***
		<b>F<sub>(4,25)</sub> = 13.52, p ≤ 0.001</b>	<b>F<sub>(4,25)</sub> = 14.47, p ≤ 0.001</b>

Efectos en la actividad locomotora de CLO a dosis de 2.5, 5, 10 mg/kg en la prueba de campo abierto y Extra.MeOH en las dosis de 10, 50, 100, 200 mg/kg. Los datos se presentan como media ± SEM (n = 6). Las comparaciones se realizaron usar el análisis de varianza de una sola vía. \*p ≤ 0.05, \*\*p ≤ 0.01 y \*\*\*p ≤ 0.001, significativamente diferente del control.

## 6.5 Evaluación hipoglucemiante

### 6.5.1 Tolerancia a la glucosa

Respecto a la tolerancia a la glucosa, en la **Figura 11** se muestran los niveles de glucosa en función del tiempo para los distintos tratamientos con respecto al grupo control, donde podemos observar que en el caso del grupo tratado con la GLI (**Figura A**) a concentración de 15 mg/kg sus niveles de glucosa fueron disminuyendo significativamente después de los 30 minutos ( $p < 0.05$ ) pero fue a partir de las 2 horas cuando la glucosa en sangre disminuyó. Por otro lado, como se muestra en la **Figura B y D** no hubo disminución en los niveles de glucosa durante la primera hora en los grupos tratados con la dosis de 50 y 200 mg/kg del extracto. Se observa en la **Tabla 7** que el extracto de MeOH a la dosis de 100 mg/kg reduce la concentración de glucosa a los 30 minutos ( $102.32 \pm 10.51$  mg/dL,  $p < 0.01$ ) en comparación al control que solo recibió solución salina ( $180.28 \pm 22.65$  mg/dL). Posteriormente como se muestra en la **Tabla 8** se realizó una comparación entre tratamientos y los resultados indicaron que no existen diferencias significativas entre los grupos experimentales que recibieron GLI y Extra. MeOH.

**Tabla 7.** Glucosa en sangre después de la administración oral de 2 g/kg de glucosa

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Glucosa (mg/dL)
CTL	0.9% sol. salina	$184.28 \pm 22.65$
GLI	15	$120.75 \pm 11.15$ *
Extra. MeOH	50	$133.76 \pm 12.51$
	100	$102.32 \pm 10.51$ **
	200	$128.12 \pm 15.84$

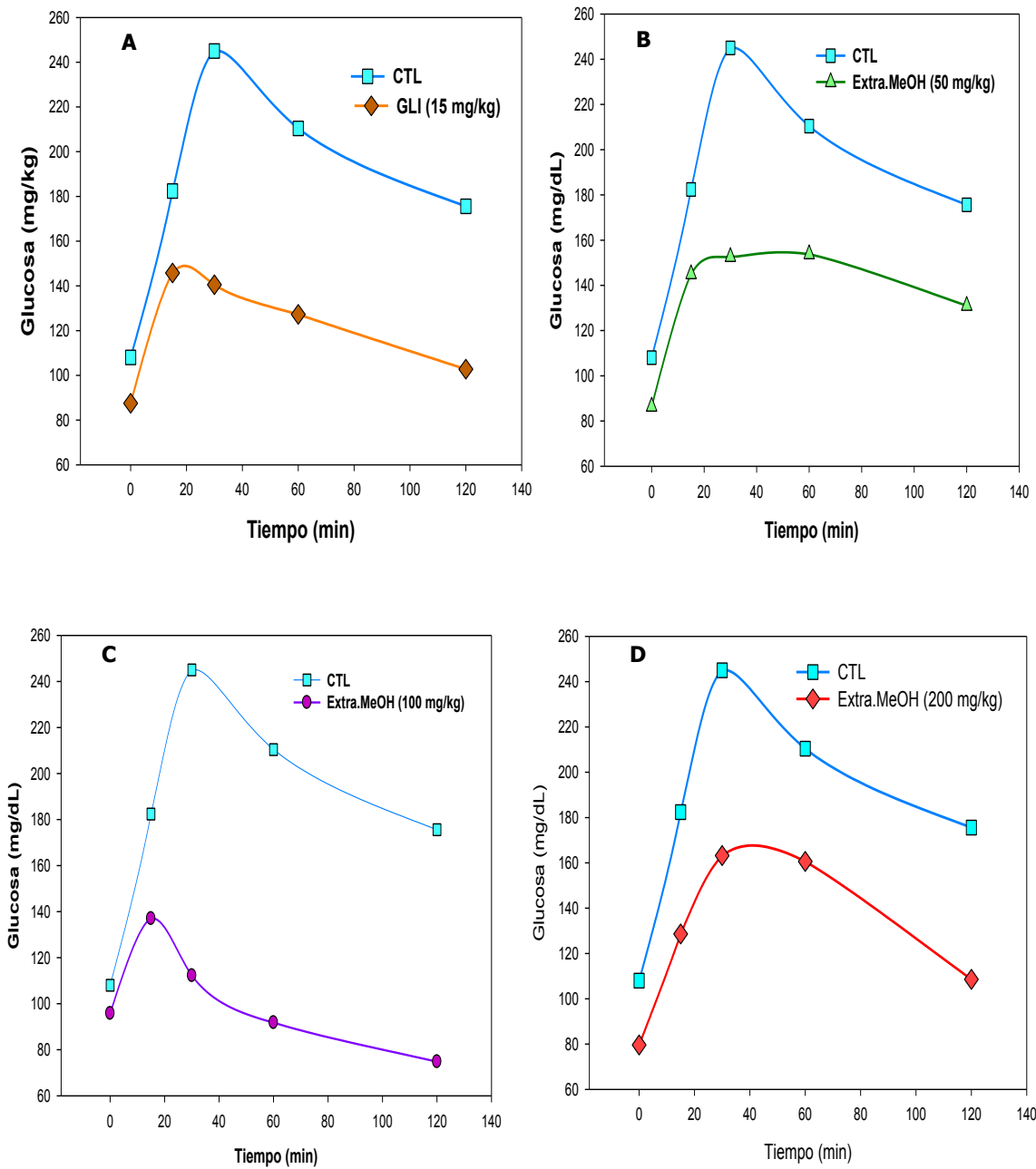
**F<sub>(4,20)</sub> = 4.046, p = 0.01**

**Tabla 8.** Niveles de glucosa en sangre, comparación entre tratamientos.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Glucosa (mg/dL)
GLI	15 vs 50	t = 23.00, n=5, p= 0.42
	15 vs 100	t = 33.00, n=5, p= 0.31
	15 vs 200	t = 25.00, n= 5, p= 0.69
Extra. MeOH	50 vs 100	t = 35.00, n= 5, p= 0.15
	50 vs 200	t = 28.00, n= 5, p= 1.00
	100 vs 200	t = 22.00, n= 5, p= 0.31

**H = 3.183, gl=3, p = 0.364**

Efecto hipoglucemiante de GLI a dosis única de 15 mg/kg y Extra. MeOH a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg en la prueba de tolerancia a la glucosa. Todos los resultados se expresan como promedio  $\pm$  SEM de 5 animales mediante un análisis de varianza de Kruskal-Wallis basado en el rango, seguido de la prueba U de Mann-Whitney.



**Figura 11.** Curvas de tolerancia a la glucosa de los diferentes tratamientos contra el CTL A) GLI 15 mg/kg y Extra.MeOH a diferentes dosis B)50, C)100 y D)200 mg/kg durante los tiempos 15, 30, 60, y 120 minutos después de la administración oral de glucosa. El tamaño de la muestra fue de n=5 por grupo, los datos se presentan como el promedio  $\pm$  error estándar en mg. Las comparaciones se realizaron usar el análisis de varianza de una sola vía. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  y \*\*\* $p \leq 0.001$ , significativamente diferente del control.



### 6.5.2 Diseño experimental de diabetes mellitus.

En la **Tabla 9** se muestran los resultados obtenidos del consumo de alimento y agua de cada uno de los grupos. Los resultados indican que respecto a la ingesta de alimento hay una diferencia estadísticamente significativa ( $H = 14.014$ ,  $gl = 4$ ,  $p = 0.007$ ) entre los diferentes grupos tratados y el grupo sano.

En cuanto al consumo de agua la prueba de Bonferroni nos indica que existe diferencia significativa entre el CTLS y el CTLD, CTL-positivo y DEX1 ( $F_{(4,15)} = 13.142$ ,  $p \leq 0.001$ ), siendo el CTLD aquel con mayor diferencia, lo cual tiene mucho sentido debido a que al ser un grupo el cual no recibió ningún tratamiento con efecto hipoglucemiante su ingesta de agua iba a ser mayor, ya que está relacionado a uno de los principales síntomas del diabético la polidipsia, lo cual podemos observar en las gráficas A y B de la **Figura 11**. Con respecto al CTL-positivo y DEX1 podemos observar que la cantidad de agua consumida fue mayor, lo que no indica que dichos tratamientos no tuvieron efecto.

Por otra parte, en la **Tabla 10** se muestra la comparación por pares mediante la prueba de Tukey la cual indica que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) tanto en el consumo de alimento como de agua entre el CTLD (tratado con buffer citrato) y el grupo que recibió 200 mg/kg del Extra.MeOH, estos resultados indican que el extracto redujo la cantidad de ambas ingestas, además, presenta diferencia con respecto al CTLS, mientras que en el CTLD mantuvo la polifagia y polidipsia en los ratones. En cuanto a los demás grupos con respecto al consumo de alimento se encontró diferencia significativa entre CTLS y el CTL-positivo ( $t = 26.00$ ,  $n = 4$ ,  $p = 0.029$ ), y entre los dos grupos DEX1 y DEX2 ( $t = 26.00$ ,  $n = 4$ ,  $p = 0.029$ ).

**Tabla 9.** Ingesta de alimento y agua de los diferentes grupos durante los 28 días de experimentación.

Grupos	Consumo de alimento (g)	Consumo de agua (mL)
CTLS	38.76 ± 0.414	44.90 ± 1.17
CTLD	46.91 ± 4.01	130.77 ± 13.46 ***
CTL-positivo	26.81 ± 5.05	84.90 ± 7.53 **
DEX1	41.36 ± 4.68	101.98 ± 14.94 *
DEX2	23.11 ± 1.02	51.08 ± 4.87

**H = 14.014 gl=4 p= 0.007      F<sub>(4,15)</sub> = 13.142, p ≤ 0.001**

**Tabla 10.** Comparación entre los diferentes grupos con respecto al consumo de alimento y agua.

Comparación	Consumo de alimento (g)	Consumo de agua (mL)
<b>CTLD vs CTL-positivo</b>	t= 26.00, n=4, p= 0.029	t= 25.00, n=4, p= 0.05
<b>CTLD vs DEX1</b>	t= 20.00, n=4, p= 0.686	t= 22.00, n=4, p= 0.34
<b>CTLD vs DEX2</b>	t= 26.00, n=4, p= 0.029	t= 26.00, n=4, p= 0.02
<b>CTL-positivo vs DEX1</b>	t= 11.00, n=4, p= 0.057	t= 16.00, n=4, p=0.68
<b>CTL-positivo vs DEX2</b>	t= 23.00, n=4, p= 0.200	t= 26.00, n=4, p= 0.02
<b>DEX1 vs DEX2</b>	t= 26.00, n=4, p= 0.029	t= 26.00, n=4, p= 0.02

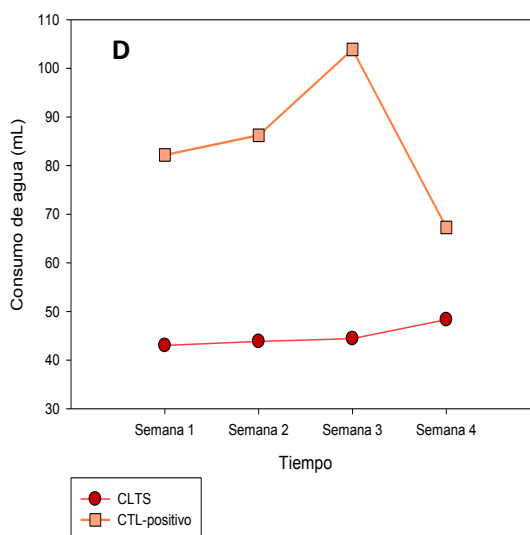
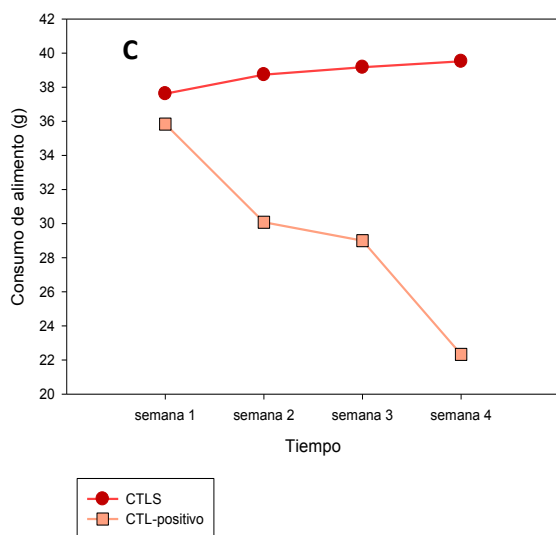
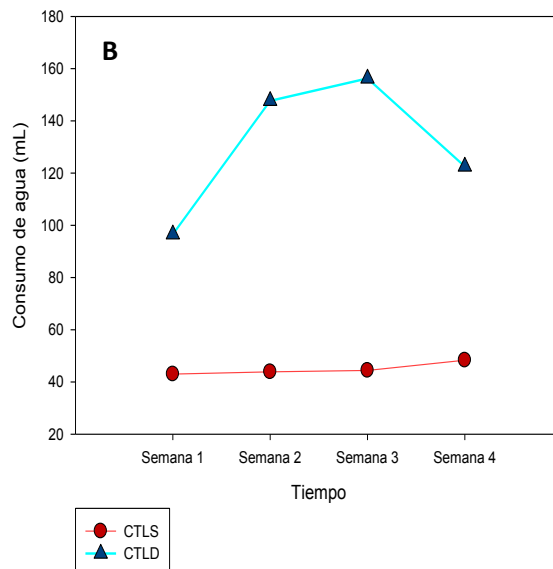
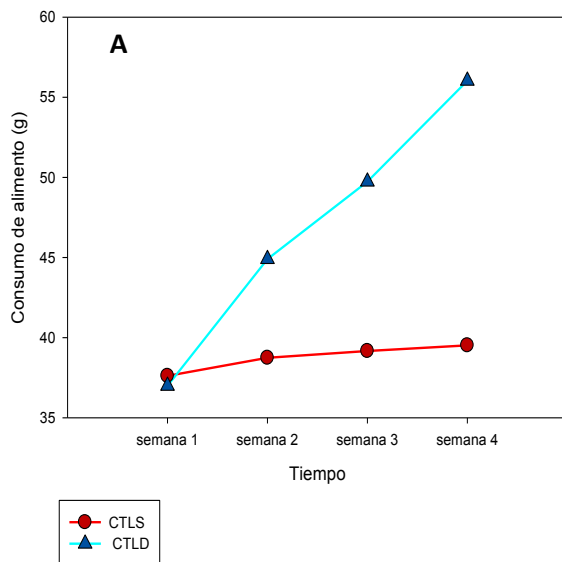
Evaluación del consumo de alimento y agua de los diferentes grupos tratados con Buffer citrato, GLI 15 mg/kg, y Extra. MeOH a diferentes dosis (100 y 200 mg/kg) por vía IP durante 4 semanas. Todos los resultados se expresan como promedio  $\pm$  SEM de 3-7 animales mediante un análisis de varianza de una sola vía de Bonferroni y Tukey, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$  y \*\*\* $p \leq 0.001$ , significativamente diferente.

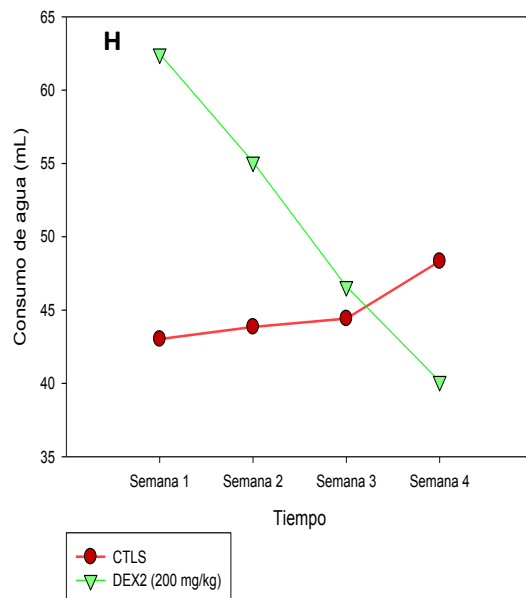
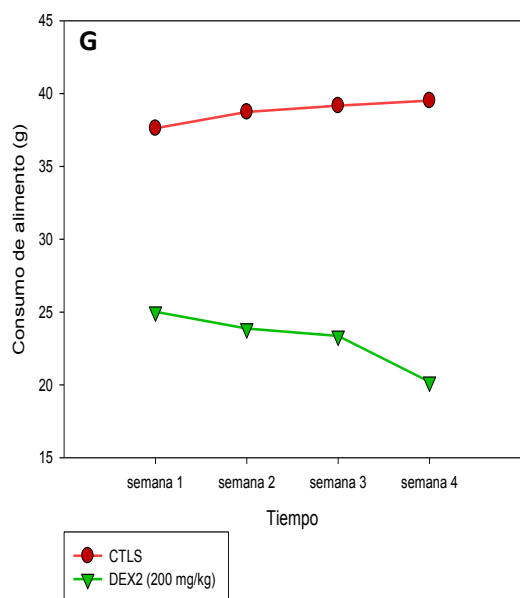
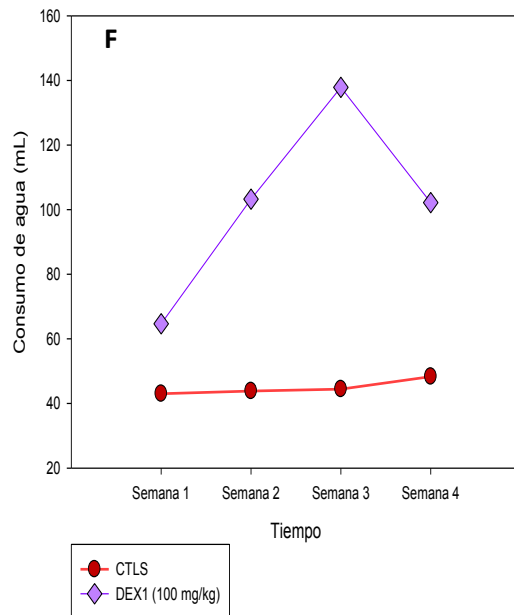
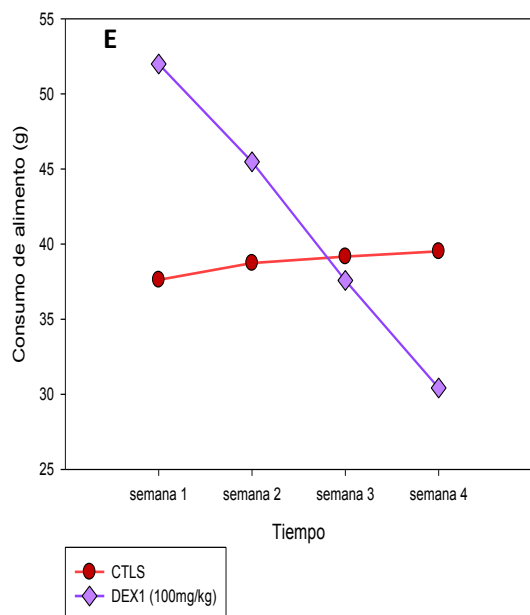
Posteriormente podemos observar que conforme pasaron las semanas hubo un aumento en la cantidad de alimento y agua consumidos del grupo CTLD (**Figura 11A y B**), lo cual se relaciona con los síntomas de un diabético la polidipsia y polifagia, el síntoma de poliuria se identificó cuando se realizaba el cambio de cama misma que se encontraba completamente mojada. En cambio, el grupo sano durante las cuatro semanas de experimentación no incremento su consumo de alimento y agua.

En el caso del grupo diabético que fue tratado con glibenclamida (15 mg/kg) como se muestra en el **Figura 11C**, su consumo de alimento fue menor con respecto al CTLS y fue disminuyendo conforme las semanas, pero esto pudo deberse a la cantidad de ratones en dicho grupo, ya que desde la semana uno solo sobrevivió 3 del total de 8 ratones. En cambio, en cuanto al consumo de agua se pudo observar que fue mayor que el del control sano (**Figura 11D**). No obstante, para la semana cuatro disminuyó significativamente la ingesta tanto de alimento como de agua, esto pudo deberse al estado de los animales ya que presentaron varios cambios fisiológicos como: parpados semicerrados, piloerección, conducta decaída, en general, su actividad era anormal.

Por otra parte, el grupo que recibió el Extra.MeOH a dosis de 100 mg/kg presentó una disminución significativa en su alimentación a partir de la semana dos, esto debido a que se observaron los mismos factores fisiológicos que en el caso del grupo de glibenclamida, en cuanto a la ingesta de agua hubo una disminución en la semana cuatro. Sin embargo, se consideró dentro de lo normal al tratarse de ratones diabéticos (**Figura 11E y F**).

Finalmente, el grupo tratado con 200 mg/kg del Extra.MeOH mantuvo una constante ingesta de alimento durante las cuatro semanas, por otra parte, respecto al consumo de agua hubo una disminución a partir de la tercera semana llegando a tener una ingesta menor que en el grupo control, esto se relaciona con el efecto hipoglucemiante que tuvo el extracto a esta dosis, generando síntomas de un grupo normoglucémicos (**Figura 11G y H**)

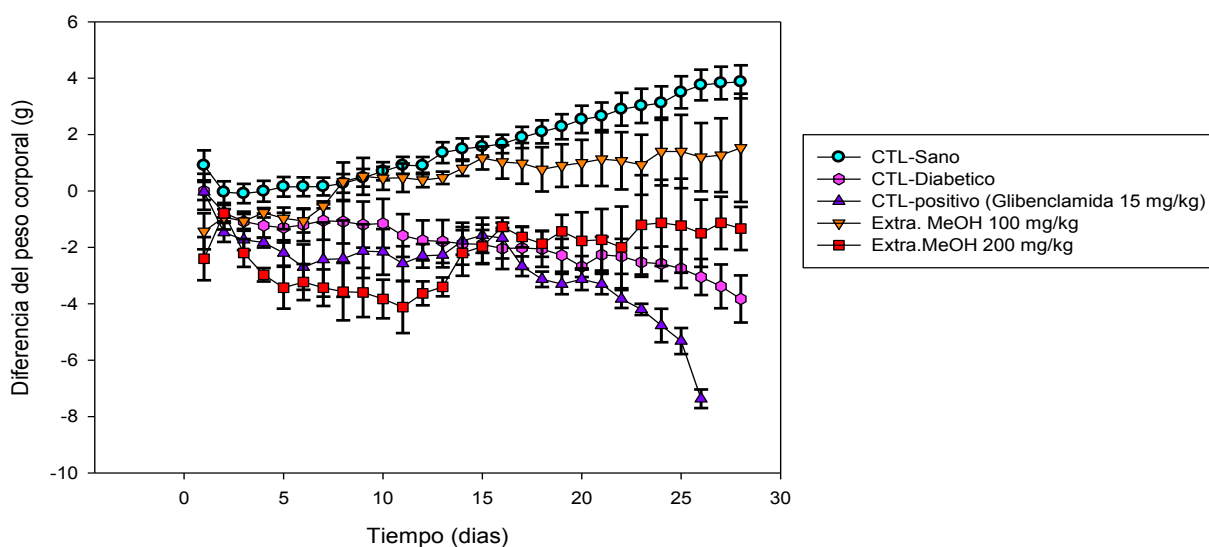




**Figura 12.** Evolución de la ingesta de alimento y agua de los grupos experimentales con respecto al grupo control durante las 4 semanas para la estandarización de la inducción de diabetes; A-B) CTLD, C-D) CTL-positivo, E-F) DEX1 (100 mg/kg) y G-H) DEX2 (200 mg/kg).

También se evaluó el peso corporal de los 5 grupos durante el tiempo de experimentación, los resultados se muestran en la **Figura 13**, es importante mencionar que para la obtención de dichos resultados solamente se consideraron los pesos de los ratones que cumplieron con los 28 días de tratamiento. esto con el objetivo de cerciorarse si existió alguna variación en el peso de los animales. Sin embargo, en el caso del CTL-positivo se consideraron los pesos de los 3 ratones que fueron tratados durante 26 días.

El peso corporal promedio inicial del grupo control (27.49 g), mientras que el peso inicial de los demás grupos fue de  $30.15 \pm 0.3$ ,  $29.83 \pm 0.6$ ,  $23.50 \pm 0.6$  y  $26.77 \pm 0.7$  g para el CTLD, CTL-positivo, DEX1 y DEX2 respectivamente. Se puede observar que el peso medio inicial del CTLD fue superior que el del control. Como se muestra en la **Figura 13** en el caso del grupo control se observó un incremento gradual del peso en los ratones, como era esperado, teniendo en cuenta que se encontraban sanos y en periodo de crecimiento. Con respecto al control diabético podemos observar que fue decreciendo el peso de los animales, esto concuerda con la tendencia general que presentan los pacientes diabéticos con el tiempo, quienes van perdiendo peso cuando no reciben un tratamiento adecuado. Posteriormente el peso del grupo tratado con glibenclamida se mantuvo durante 15 días, sin embargo, su peso disminuyó significativamente a partir del día 17, esto debido a los factores fisiológicos que presentaron mismos que ya fueron descritos anteriormente. Respecto al grupo que recibió la dosis de 100 mg/kg del extracto no se observó una disminución en su peso corporal, además de que finalizar el tiempo de experimentación los ratones volvieron a su peso medio inicial. Por último, el grupo experimental tratado con 200 mg/kg del extracto sufrió una disminución de peso, sin embargo, se recuperaron posteriormente.



**Figura 13.** Evolución del peso corporal de los animales de los grupos experimentales con respecto al grupo control sano durante las 4 semanas del protocolo para la estandarización de la inducción de diabetes. Las barras representan el error estándar medio de la media.

Los resultados de la determinación semanal de glucosa de los grupos experimentales se presentan en las siguientes **Tablas (de la 11 a la 15)**.

Referente al control sano las concentraciones de la glucosa durante los 28 días de tratamiento registran un ligero aumento, sin embargo, no resulta significativo debido a que siempre se mantuvieron dentro del rango normal de un ratón sano (**Tabla 11**)

**Tabla 11.** Concentraciones de glucosa sanguínea en ratones normoglucémicos durante el tiempo de experimentación.

Tratamiento: Buffer citrato 0.1 M pH=4.5					
CTLS	Glucosa en sangre (mg/dL)				
# Ratón	Día 0 (basal)	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
<b>1</b>	129	152	153	100	137
<b>2</b>	107	160	160	160	162
<b>3</b>	98	156	105	147	131
<b>4</b>	108	155	147	138	126
<b>5</b>	110	149	150	148	144
<b>6</b>	102	137	162	133	138
<b>7</b>	108	135	152	147	154

Los valores de glucosa del CTLD antes de la inducción a la hiperglucemia experimental fueron entre 100-128 mg/dL. Después con la inducción del SZT después de 72 horas se logró valores hiperglucémicos por encima de los 160 mg/dL. Posteriormente en el primer monitoreo de glucosa después de siete días de tratamiento se observó que los niveles de glucemia fueron en aumento hasta por encima de 400 mg/dL, después de 21 días los niveles de glucosa fueron superiores a 600 mg/dL sin embargo esto resulto ser letal para algunos ya que no resistieron hasta los 28 días de tratamiento (**Tabla 12**).

El CTL-positivo recibió dos dosis consecutivas de SZT (100 mg/kg) para la inducción a la diabetes, 72 horas después se observó que 4 de los 7 ratones presentaron niveles de glucosa por encima de 200 mg/dL, mientras que los ratones 3, 6 y 7 mostraron glucosas menores de 160 mg/dL, debido a ello se decidió aplicar una tercera dosis de SZT con la cual obtuvieron glucemias mayores a lo mencionado en la metodología. Después el grupo fue tratado con glibenclamida, sin embargo los ratones 2 y 6 solo recibieron 2 veces el tratamiento ya al día siguiente se encontraron sin vida, también el día 4 se observaron cambios fisiológicos (parpados cerrados, postura encorvada, menos activos y con piloerección) en los ratones 1 y 6 debido a ellos se monitoreo su glucosa la cual se encontraba en el caso del ratón 1 por debajo de los niveles normales <70 mg/dL y el ratón 6 presento una glucemia de 90 mg/dL lo cual indicaba que estaban presentando hipoglucemia, debido a lo antes mencionado los ratones no cumplieron con los 28 días de tratamiento ya que no sobrevivieron después de ese día, dichos acontecimientos pudieron deberse a la toxicidad de la SZT y al a ver recibido más de una dosis de la misma. Por otra

parte, el tratamiento con glibenclamida no produjo disminución en los niveles de glucosa de los tres ratones que lograron sobrevivir mismos que solo fueron tratados durante 26 días.

**Tabla 12.** Concentraciones de glucosa sanguínea en ratones diabéticos durante el tiempo de experimentación.

CTLD		Tratamiento: Buffer citrato 0.1 M pH=4.5					
# Ratón	Glucosa en sangre (mg/dL)						
	Día 0 (basal)	72 h después de administrar SZT	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	
1	110	179	453	462	527	514	
2	100	169	455	>600	>600	*	
3	114	198	506	583	>600	531	
4	110	151	485	>600	*	*	
5	128	182	484	375	587	577	
6	119	317	584	558	>600	>600	
7	122	252	566	488	>600	*	

**Tabla 13.** Concentraciones de glucosa sanguínea en ratones diabéticos durante el tiempo de experimentación.

CTL positivo		Tratamiento: Glibenclamida 15 mg/kg						
# Ratón	Glucosa en sangre (mg/dL)							
	Día 0 (basal)	72 h después de administrar 2 dosis de SZT	72 h después de administrar 3 dosis de SZT	Día 4	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
1	127	214	-	30	*	*	*	*
2	110	432	-	*	*	*	*	*
3	120	148	449	-	486	>600	>600	*
4	11	446	-	-	548	>600	>600	*
5	123	372	-	-	527	508	528	*
6	134	156	171	92	*	*	*	*
7	137	122	321	-	*	*	*	*

\* Animales que no sobrevivieron

Como se aprecia en la **Tabla 14** el grupo de ratones diabéticos que recibió como tratamiento 100 mg/kg del extracto de metanol, no consiguió detener el incremento de glucosa en sangre lo que implicó que muchos de los ratones no sobrevivieran a los 28 días de tratamiento. En cambio, la glucosa del grupo DEX2 disminuyó significativamente, como se muestra en la **Tabla 15** el ratón No.2 presentó una concentración de glucosa de 376 mg/dL después de la inducción a la diabetes, posteriormente se observa que la glucemia disminuye progresivamente conforme avanzan los días de tratamiento hasta llegar a valores cercanos

al control normal (142 mg/dL). Por otra parte el ratón No.3 al cual la administración diaria del extracto logró mantener su glucemia en niveles normales hasta el día 28, sin embargo de la misma manera que los otros grupos experimentales muchos de los ratones no concluyeron con el tiempo de experimentación, pero debido a los resultados obtenidos se podría decir que a estas dosis el extracto resulta ser efectiva e incluso contrarresta un efecto de hiperglucemia, sin embargo es imposible realizar una estadística debido al número de ratones que llegaron al final del protocolo.

**Tabla 14.** Efecto del Extra. MeOH a dosis de 100 mg/kg en los niveles de glucosa sanguínea en ratones diabéticos durante 28 días de tratamiento.

Tratamiento: Extra. MeOH 100 mg/kg						
DEX1	Glucosa en sangre (mg/dL)					
# Ratón	Día 0 (basal)	72 h después de administrar SZT	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
1	150	348	*	*	*	*
2	147	591	>600	>600	>600	*
3	142	194	471	452	522	>600
4	160	369	*	*	*	*
5	151	219	>600	565	578	*
6	123	222	*	*	*	*
7	140	184	490	72	347	341
8	151	332	559	556	>600	501

**Tabla 15.** Efecto del Extra. MeOH a dosis de 200 mg/kg en los niveles de glucosa sanguínea en ratones diabéticos durante 28 días de tratamiento.

Tratamiento: Extra. MeOH 200 mg/kg						
DEX2	Glucosa en sangre (mg/dL)					
# Ratón	Día 0 (basal)	72 h después de administrar 2 dosis de SZT	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
1	149	458	*	*	*	*
2	123	376	311	246	287	142
3	132	148	103	124	140	86
4	119	467	418	580	552	520
5	114	301	151	595	*	*
6	136	339	*	*	*	*
7	110	194	468	*	*	*

\* Animales que no sobrevivieron



## 6.6 Toma de muestras y sacrificio de los ratones

### 6.6.1 Peso del órgano en relación con el peso corporal

El examen macroscópico de los órganos no reveló lesiones o cambios patológicos atribuibles al extracto de metanol de *B. divaricata* y al buffer citrato. Sin embargo, en uno de los 3 ratones del grupo DEX2 se observó que su bazo era de un tamaño considerablemente grande ( $0.68 \pm 0.03$ ), también se encontró la presencia de un bolita de grasa cerca del riñón izquierdo en otro de los ratones, mismo caso sucedió con el CTLD, pero el tamaño de la bola de grasa resulto ser más grande y este se encontraba en el intestino de uno de los ratones.

Los resultados del peso relativo resumidos en la **Tabla 16** muestran que el extracto a 200 mg/kg produjo un aumento en el bazo en comparación con el grupo sano, mientras que los pesos relativos del hígado y riñones no cambiaron. Respecto a la dosis de 100 mg/kg de igual forma ocasiono un aumento en el hígado, pero el peso del bazo y riñones no cambio.

La prueba de Bonferroni mostró que todos los grupos en cuanto al estómago tienen una diferencia significativa con respecto al CTLS, es decir que en los grupos CTLD, DEX1 y DEX2 hubo un aumento en el peso relativo de este órgano.

**Tabla 16.** Efecto del extracto de metanol de *B. divaricata* y de los diferentes tratamientos sobre el peso relativo de los órganos. Tratamiento intraperitoneal de 28 días.

Tratamiento					
Órgano	CTLS (buffer citrato)	CTLD (buffer citrato)	DEX1 100 mg/kg	DEX2 200 mg/kg	Diferencia significativa
<b>Bazo</b>	0.42 ± 0.02	0.45 ± 0.5	0.27 ± 0.5	0.68 ± 0.03 ***	F <sub>(3,13)</sub> = 14.026, p= <0.001
<b>Riñón der.</b>	0.70 ± 0.01	0.73 ± 0.03	0.81 ± 0.08	0.78 ± 0.05	F <sub>(3,13)</sub> = 1.570, p=0.244
<b>Riñón izq.</b>	0.70 ± 0.01	0.68 ± 0.04	0.77 ± 0.04	0.71 ± 0.04	F <sub>(3,13)</sub> = 0.941, p= 0.449
<b>Hígado</b>	5.12 ± 0.14	5.86 ± 0.25	6.71 ± 0.46 **	5.78 ± 0.39	F <sub>(3,13)</sub> = 6.190, p= 0.008
<b>Estómago</b>	0.61 ± 0.01	0.74 ± 0.02	0.76 ± 0.03	0.78 ± 0.03	F <sub>(3,13)</sub> = 10.984, p= <0.001

Resultados del peso relativo de los órganos de los ratones después de recibir un tratamiento de 28 días con extracto de metanol (100 y 200 mg/kg) y Buffer citrato. Los resultados se expresan como media ± SEM. Las diferencias entre los grupos se analizaron mediante un ANOVA de una sola vía (test Bonferroni), seguido de la prueba t de Student para comparaciones pareadas. \*p ≤ 0,05. \*\* p ≤ 0.01, \*\*\* p ≤ 0,001 significativamente diferente.

## 6.6.2 Nado forzado

En la **Tabla 16** se muestra el tiempo de inmovilidad de la prueba de nado forzado después de la administración IP durante 28 días de los diferentes tratamientos en grupos diabético. Con respecto al CTLD al no recibir un tratamiento adecuado no hubo diferencia significativa con respecto al control sano; sin embargo, se esperaría que el tiempo de inmovilidad fuera mayor debido a la enfermedad que padecían. En cambio, se observó que el extracto a dosis de 100 mg/kg redujo significativamente el tiempo de inmovilidad en comparación con el grupo sano, lo cual confirma el posible efecto de tipo antidepresivo que pudiese tener el extracto a esta dosis, también en el caso del grupo DEX2 se redujo el tiempo de inmovilidad. En cuanto a la comparación entre tratamientos mediante la prueba de U de Mann-Whitney, existe una diferencia significativa entre los tratamientos del CTLD, DEX1 y DEX2 (**Tabla 17**).

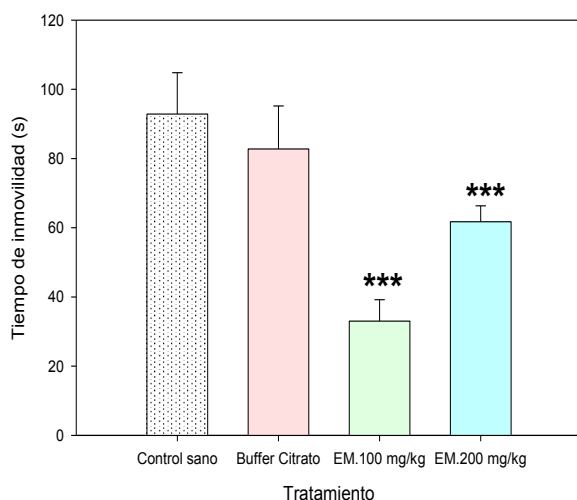
**Tabla 16.** Efecto de tipo antidepresivo de los diferentes tratamientos en ratones diabéticos respecto al grupo sano.

Grupos	Tratamiento	Tiempo de inmovilidad (s)
Control sano	Buffer citrato	93.34 ± 4.32
Control diabético	Buffer citrato	83.88 ± 5.64
Diabético	Extra.MeOH 100	33.32 ± 2.94 ***
Diabético	Extra.MeOH 200	62.22 ± 2.06 ***

$$F_{(3,15)} = 38.191, p \leq 0.001$$

**Tabla 17.** Comparación entre los diferentes grupos experimentales.

Comparación entre tratamientos	Tiempo de inmovilidad (s)
Control diabético vs Extra.MeOH 100	t= 26.00, n=4, p= 0.029
Control diabético vs Extra.MeOH 200	t= 26.00, n=4, p=0.029
Extra.MeOH 100 vs Extra.MeOH 200	t= 10.00, n=4, p= 0.029



**Figura 14.** Efecto antidepresivo de los diferentes tratamientos en ratones diabéticos en la prueba de nado forzado. Las barras representan el error estándar medio de la media, los datos se expresan como la media ± SEM (n= 6). Las comparaciones fueron analizadas por análisis de varianza de una sola vía, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. \*p≤0.05, \*\*p ≤0.01 y \*\*\*p ≤0.001, significativamente diferente del control

### 6.6.3 Determinación de los niveles de glucosa, interleucina 1 $\beta$ y 6, corticosterona y TNF- $\alpha$ en plasma.

Como se muestran en la **Tabla 18** no existe una diferencia significativa en los niveles de corticosterona entre los grupos diabéticos con respecto al grupo sano. Respecto a la concentración de TNF- $\alpha$  en plasma tampoco se encontró diferencia entre los diferentes grupos experimentales y el grupo sano. De acuerdo con la concentración de IL no muestra diferencia significativa entre los diferentes grupos experimentales. Por otra parte, los ratones tratados con el extracto a 200 mg/kg, presentaron niveles de glucosa menores que el resto de los grupos.

**Tabla 18.** Determinación de los niveles de glucosa, Interleucinas (1 $\beta$  y 6), corticosterona, y TNF- $\alpha$  en plasma de los diferentes grupos experimentales después de 28 días de tratamiento.

Grupos	Tratamiento	Glucosa (mg/dL)	Corticosterona (ng/mL)	IL pg/mL	TNF (pg/mL)
<b>CTLS</b>	Buffer citrato	89.278 $\pm$ 6.61	227.679 $\pm$ 51.91	229.46 $\pm$ 48.82	917.911 $\pm$ 214.72
<b>CTLD</b>	Buffer citrato	69.790 $\pm$ 4.98	281.352 $\pm$ 30.46	206.25 $\pm$ 27.00	1097.198 $\pm$ 348.27
<b>DEX1</b>	Extra.MeOH				
	100	76.740 $\pm$ 2.75	308.527 $\pm$ 138.34	181.25 $\pm$ 40.18	831.588 $\pm$ 459.87
<b>DEX2</b>	Extra.MeOH				
	200	50.077 $\pm$ 8.63**	279.188 $\pm$ 83.84	264.58 $\pm$ 110.47	1085.577 $\pm$ 275.19
		<b>F<sub>(3,11)</sub> = 5.963</b>	<b>F<sub>(3,12)</sub> = 0.292</b>	<b>F<sub>(3,13)</sub> = 0.267</b>	<b>F<sub>(3,13)</sub> = 0.153</b>
		<b>p= 0.011</b>	<b>p= 0.831</b>	<b>p=0.848</b>	<b>p=0.926</b>

Concentración de glucosa, IL-1 $\beta$  e IL-6, corticosterona, TNF- $\alpha$  y glucosa en plasma de los ratones después de recibir un tratamiento de 28 días con extracto de metanol (100 y 200 mg/kg) y vehículo de Buffer citrato. Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM. Las diferencias entre los grupos se analizaron mediante un ANOVA de una sola vía (test Bonferroni), seguido de la prueba t de Student para comparaciones pareadas. \*p  $\leq$  0,05. \*\* p  $\leq$  0.01, \*\*\* p  $\leq$  0,001 significativamente diferente.

## 7. Discusión

Debido a la falta de estudios sobre el efecto antidepresivo de *Bauhinia divaricata* L; planta conocida y utilizada por sus diversas propiedades terapéuticas en diferentes partes de México, se decidió llevar a cabo la evaluación del efecto de tipo antidepresivo del extracto de metanol de las partes aéreas de *Bauhinia divaricata*, mediante el uso de modelos de conducta animal como la prueba de nado forzado y de suspensión de cola. En base a estos experimentos se demostró que a diferentes dosis de un extracto de *Bauhinia divaricata* se produce dicho efecto. Cabe mencionar que durante ambas pruebas los animales se colocan en una situación de estrés, donde la actividad antidepresiva se expresa a través de la disminución del tiempo de inmovilidad, la cual podría reflejar un efecto de desesperanza conductual, indicando un síntoma de la depresión. De acuerdo con lo antes mencionado, en el presente estudio se demuestra que la administración IP del extracto a dosis de (100 mg/kg) fue capaz de disminuir significativamente el tiempo de inmovilidad de los ratones evidenciando así un efecto antidepresivo. Las propiedades antidepresivas observadas podrían estar relacionadas con la presencia de diferentes grupos de compuestos presentes en el extracto, de acuerdo con la literatura científica, numerosos estudios sugieren que la presencia de metabolitos secundarios del tipo de los flavonoides, al actuar sobre el sistema nervioso SNC tienden a tener propiedades antidepresivas, antiinflamatorias, ansiolíticas, antioxidantes y anticancerígeno (Herrera et al., 2006; Castillo et al., 2004). Sin embargo, debido a que no se conocen con exactitud los compuestos presentes en el extracto, es recomendado realizar un estudio fitoquímico mediante métodos cromatográficos y espectrofotométricos para saber con precisión a que compuestos se puede deber dicho efecto. Sin embargo, el mismo extracto de metanol de *Bauhinia divaricata* en la prueba de Nado forzado y suspensión de cola a las dosis de 10, 5 y 200 mg/kg no decreció el tiempo de inmovilidad, por lo que a dichas dosis no se causó un efecto de tipo antidepresivo.

También se llevó a cabo la prueba de campo abierto (CA) con el fin de verificar que no hubiese efectos adversos en las diferentes dosis empleadas y para descartar falsos positivos en la prueba de nado forzado y suspensión de cola, el ensayo de CA permitió analizar el efecto excitador o depresor del sistema locomotor a través de la actividad exploratoria del roedor en un ambiente desconocido. Los resultados demostraron acorde a la curva dosis respuesta del extracto a las dosis de 10, 50, 100 mg/kg que no hubo propiedades de tipo ansiolíticas o alguna otra que nos indicara la presencia de algún efecto adverso, lo que significa que no hubo ninguna afectación en la actividad motora. Por otra parte, el tratamiento con extracto a 200 mg/kg produjo una disminución en el número de cuentas y paradas, producido probablemente por dolor, ya que los ratones presentaron piloerección y arqueamiento dorsal.

De acuerdo los resultados del este estudio, el extracto de metanol a 100 mg/kg evita que los niveles de glucosa aumenten después de los 30 minutos posteriores a la administración en la prueba de tolerancia a la glucosa. Por otra parte, también se presentaron diferencias significativas en los niveles de glucosa a los 60 minutos después de la administración de glibenclamida.

En el presente estudio se evaluó el efecto hipoglucemiante, en un modelo animal con diabetes inducida por STZ en el cual se evidenciaron características del síndrome diabético humano como la polidipsia, poliuria y polifagia. Con respecto a los resultados obtenidos se demostró que el Extra.MeOH de *B. divaricata* a 200 mg/kg tuvo efecto hipoglucemiante en ratones con hiperglucemia experimental, cuando fue comparado con el grupo 2 (control diabético) el cual recibió como tratamiento buffer citrato y con el grupo 1 (control sano). La dosis de 200 mg/kg empezó su acción a partir de los 7 días después de la administración de SZT. Sin embargo, la disminución de glucemia no fue significativa, conforme pasó el tiempo para el día 28 la cantidad de glucosa en sangre se encontraba dentro de los valores normales esperados esto se debió a la exposición continua al extracto que fue administrado hasta el último día del experimento. Debido a la falta del estudio fitoquímico se desconoce que componentes activos serían los responsables de esta actividad, sin embargo se podría considerar que los resultados son prometedores de la actividad hipoglucemiante de *B. divaricata* y que pueden estar relacionados a la presencia de flavonoides (observados por CCF), ya que estos compuestos son apreciados por su amplia actividad farmacológica debido a que poseen estructuras capaces de donar electrones fácilmente, además pueden unirse a enzimas, e incluso a iones metálicos transitorios tales como: hierro, cobre y zinc, catalizan el transporte de electrones y depuran los radicales libres. Sus propiedades antirradicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidróxido y superóxido, especies altamente activas, es decir poseen un efecto protector frente a los fenómenos de daño oxidativo. Con base en lo anterior se han descrito sus efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones (Saskia et al., 1998). Además, los flavonoides inhiben la actividad de la glucosa-6-fosfatasa en el hígado, con lo que se suprime la gluconeogénesis y la glucogenólisis y, consecuentemente se reduce la hiperglucemia. Así, no es de extrañar que *B. divaricata* proteja las complicaciones crónicas producidas por la diabetes, sin embargo, es necesario realizar un estudio fitoquímico de la especie con la finalidad de investigar los principales compuestos involucrados en el efecto hipoglucemiante.

En el caso de los grupos de CTLD y al DEX1 no lograron una disminución significativa de la glucosa durante los 28 días de experimento, lo que generó que mucho de los ratones no sobrevivieran. Es importante mencionar que en el caso del CTL-positivo que fue tratado con el medicamento de glibenclamida el cual es reconocido como hipoglucemiante, no demostraron su efecto a dosis de 15 mg/kg, además de ser el único grupo donde no sobrevivieron la mayoría de los ratones después de los 21 días. Lo anterior pudo ser causado por la administración doble o triple de SZT que pudo haber generado una mayor toxicidad en los animales.

Por otro lado, se determinó el consumo promedio de alimento (g/día/ratón) y de agua (mL/día/ratón) esto con el objetivo de verificar que los distintos grupos experimentales tuvieran un consumo normal y que éste no se viera afectado por la modificación en la dieta o bien por los tratamientos que se les administraron. Según Bachmanov et al. 2002, el consumo medio de alimento por día/ratón se encuentra en un rango de 3.1-6.3 g/día/ratón, mientras que el consumo medio de líquidos es de 3.9-8.2 mL/día/ratón. En este estudio, el consumo promedio del CTLS fue de entre 3.3-6.2 g de alimento/día/ratón y de entre 5.5-7.5 mL/día/ratón, por lo que se trata de valores que se encuentra dentro del rango normal

esperado. Sin embargo, respecto a los grupos inducidos a diabetes su consumo promedio de alimento fue de hasta 10.5 g/día/ratón y de agua de 6-18 mL/día/ratón en el caso del grupo tratado con la dosis de 200 mg/kg, por otra parte, el grupo que recibió 100 mg/kg del extracto su promedio de alimento fue entre 6.5-14.4 g/día/ratón y el grupo tratado con glibenclamida de 8.9-15.2 g/día/ratón y hubo un mayor consumo promedio de líquido durante las 2 últimas semanas del protocolo en los grupos 2,3 y 4 de 16.5-25 mL/día/ratón, por lo tanto los resultados indican que los tratamientos de cada uno de estos grupos experimentales no ejercieron ningún efecto debido a que presentaron un mayor consumo tanto de alimento como agua con respecto al grupo control sano.

En cuanto al control del peso corporal de cada uno de los ratones de los diferentes grupos se observó un aumento en el peso de los animales del CTLS sin embargo esto era esperado, teniendo en cuenta que se encontraban sanos y en periodo de crecimiento. Posteriormente se observó una disminución en el peso de los animales de los demás grupos, esto concuerda con la tendencia general que presentan los pacientes diabéticos con el tiempo, quienes van perdiendo peso cuando no reciben un tratamiento adecuado, sin embargo, los grupos que recibieron el extracto metanólico, se recuperaron posteriormente.

Los resultados anteriores pueden explicarse desde el punto de vista fisiológico, pues la exposición del organismo a una hiperglucemia persistente puede provocar un desequilibrio osmótico y traer como consecuencia la polifagia, polidipsia y, por ende, la poliuria.

Una vez terminados los 28 días de tratamiento se realizó la determinación del peso relativo de los órganos de los ratones. Los resultados en cuanto al análisis macroscópico de los órganos, como el hígado, riñones, bazo y estómago no presentaron ninguna anomalía. A pesar de las dos o tres dosis de SZT que se administraron en el caso grupo DEX1, así mismo esto no se vio influenciado en el peso relativo de los órganos, lo cual indica que el impacto del tratamiento con extracto de metanol en el peso corporal no está asociado con algún problema en la salud general de los animales. Sin embargo, los resultados obtenidos en el análisis estadístico indican que existe una diferencia en el peso relativo del bazo del grupo tratado con extracto a 200 mg/kg, así como del hígado del grupo DEX1 y del estómago de todos los grupos con respecto al CTLS. Debido a esto podría sospecharse que el extracto de metanol pudiera causar un problema de toxicidad, esto se consideró dado que la evaluación del peso de los órganos es una parte esencial de la evaluación toxicológica y de riesgos de medicamentos, productos químicos, productos biológicos. Sin embargo, no se puede confirmar que el extracto tenga efectos de toxicidad hasta realizar las pruebas conducentes de toxicidad.

Finalmente se analizaron los niveles de glucosa, corticosterona, interleucinas y TNF- $\alpha$  en plasma de los ratones de cada uno de los grupos experimentales. Reportes previos han demostrado la utilidad de cuantificar corticosterona plasmática para la evaluación de estrés en periodos breves de tiempo (Stalder et al., 2012). Los datos obtenidos en el presente trabajo (**Tabla 17**) exponen que los niveles de corticosterona plasmática están elevados tanto en los roedores sanos como en los grupos diabéticos, esto es consistente con estudios previos que han demostrado que el estrés en la prueba de nado forzado es un potente activador del eje HPA, provocando la liberación de corticosterona en la sangre. Los

resultados nos indican que el extracto de metanól no fue capaz de prevenir la elevación de la corticosterona generada durante el estudio a dosis de 100 y 200 mg/kg.

Para investigar si el tratamiento con el extracto puede proteger contra un aumento de los biomarcadores inflamatorios inducidos por el agente inductor (STZ), medimos el nivel de TNF- $\alpha$  en plasma 28 días después de la inducción de la diabetes. Los resultados muestran que el extracto no disminuyó la expresión de TNF- $\alpha$  en los ratones tratados a dosis de 100 y 200 mg/kg, lo cual no indica que no se redujo el estado inflamatorio general de los animales y por el contrario pudo ocasionarse un estado inflamatorio crónico, debido a esto el extracto podría no resulta ser un blanco terapéutico importante para el tratamiento a la diabetes.

Por otra parte, la administración del extracto aumento su expresión de los biomarcadores inflamatorios a niveles mayores respecto del grupo control, no obstante, la concentración de TNF- $\alpha$  en plasma no resulta ser tan diferente entre los grupos. De acuerdo con los resultados de IL 1- $\beta$ , los 4 grupos experimentales presentaron una elevada concentración de IL por lo que no hubo diferencia significativa. Los niveles de IL son un indicador de la actividad inflamatoria, por lo que la presencia de altas concentraciones de estas citoquinas en el plasma de los ratones nos indica una mayor respuesta inflamatoria, cabe mencionar, que el número de ratones que lograron sobrevivir los 28 días de tratamiento no resulta adecuado para considerar si el extracto protege o no contra el aumento de los biomarcadores inflamatorios inducidos por la diabetes.

Por último, los resultados de los niveles de glucosa en plasma indicaron que el extracto a 200 mg/kg disminuyó la concentración de glucemia respecto a los demás grupos experimentales, esto concuerda con los resultados obtenidos en la **Tabla 15**, por lo que podría confirmarse que a dicha dosis se logra un efecto hipoglucemiante.



## 8. Conclusión

La presente investigación muestra por primera vez que el extracto de metanol de las partes aéreas de *B. divaricata* a una dosis de 100 mg/kg y administrado por vía intraperitoneal causo un efecto de tipo antidepressivo en ratones normo e hiperglucémicos, en ambos modelos de depresión experimental y sin afectar la actividad locomotora de los animales. Además, la dosis de 200 mg/ kg produjo un efecto de tipo antidepressivo en ratones hiperglucémicos en la prueba de nado forzado, no obstante, se observaron efectos adversos como: dolor abdominal caracterizado por estiramiento y adelgazamiento de la parte central del cuerpo (rash), piloerección, lo que ocasionó una disminución en su actividad ambulatoria.

El extracto a dosis de 100 mg/kg y la glibenclamida a 15 mg/kg no redujeron los niveles de glucosa, en cambio la dosis de 200 mg/kg disminuye la concentración de glucosa en sangre después de 28 días de tratamiento. Sin embargo, es necesario aumentar el número de animales experimentales para realizar un análisis estadístico que valide este efecto.

Es importante realizar nuevamente el diseño experimental respecto a la inducción a la diabetes debido a que la administración del agente diabetológico (SZT) ocasiono un rebote fisiológico por lo que se recomienda esperar un mínimo de siete días para confirmar la hiperglucemia y posteriormente efectuar la administración de los tratamientos, esto con el fin de evitar la aplicación de más de una dosis de SZT, ya que la administración de 100 mg/kg produjo efectos colaterales sobre los ratones y disminuyó considerablemente la tasa de supervivencia. Lo antes mencionado se recomienda con el fin de poder hacer un análisis estadístico robusto de los datos. Sin embargo, los resultados obtenidos en este primer estudio sobre el extracto de metanol de las partes aéreas de *B. divaricata* son una guía para futuras investigaciones con la finalidad de demostrar que esta especie pueda considerarse como una opción en los tratamientos como hipoglucemiante y antidepressivo.



## 9. Referencias

1. Pedro Ángeles Alejandra (2019): Efecto anti hiperglucémico de *Bauhinia divaricata* L (Leguminosae), Universidad Autónoma de Mexico, facultad de Química; disponible en:  
[https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/DGB\\_UNAM/TES01000790723/3/0790723.pdf](https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/DGB_UNAM/TES01000790723/3/0790723.pdf)
2. Josabad Ángel, Castro Alonso, Gasca Martínez Clara Alba Betancourt (2022): Plantas medicinales con efectos en modelos de ansiedad y depresión en ratones, disponible en: <https://elementos.buap.mx/directus/storage/uploads/00000007223.pdf>
3. Bachmanov, A.A, Reed, D.R., Beauchamp, G.K, Tordoff, M.G. (2002). Food intake, water intake, and drinking spout side preference of 28 mouse strains. 32: 435-443.
4. Bequer L, Gómez T., Molina J.L., Artilés D., Bermúdez R., Clapés S. (2016). Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes, 36:230-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2686>
5. Camile Cecconi Cechinel-Zanchett, Sérgio Faloni de Andrade y Valdir Cechinel-Filho (2018):Ethnopharmacological, Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspects of *Bauhinia forficata*: A Mini-Review Covering the Last Five Years, Natural Product Communications | 10.1177/1934578X1801300732 | DeepDyve
6. Castillo S, González-Lavaut J. González J, Prieto-González S y Urquiola-Cruz A, (2004). Identificación fitoquímica de las hojas y ramas de la *Helietta Cubensis* 71 Monach-Moldenke, especie endémica de Cuba. Revista Cubana de Farmacia; 38 (1): 1-3.
7. Concepción Vinader Caerols (1993) Prueba de natación forzada en ratones: habituación, olvido y efecto de la escopolamina, disponible en:[00001t.tif](http://00001t.tif) ([core.ac.uk](http://core.ac.uk))
8. Cryan, J.; Page, M. & Lucki, I. (2005b) Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *European Journal of Pharmacology*, v. 436, n. 3, p. 197-205.
9. Cryan, J.; Valentino, R. & Lucki, I. (2005) Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 29, n. 4-5, p. 547-569
10. Cryan, J.; Valentino, R. y Lucki, I. (2005) Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 29, n. 4-5, p. 547-569
11. Da Cuña M y Acosta V., (2020). Tratamiento con resveratrol en ratones diabéticos tipo i: parámetros fisiológicos y comportamentales, disponible en: [FV-34267.pdf](http://FV-34267.pdf) ([udelar.edu.uy](http://udelar.edu.uy))
12. Estrada Reyes Rosa, Cassani Julia, Ferreyra Cruz Octavio Alberto, Dorantes Barrón Ana María, Vigueras Villaseñor Rosa María, Arrieta Baez Daniel (2015). Antidepressant-like and toxicological effects of a standardized aqueous extract of *Chrysactinia mexicana* A. Gray (Asteraceae) in mice. Vol 171, Pages 295-306.

13. Gogas, K. R., Lechner, S. M., Markison, S., Williams, J. P., McCarthy, W., Grigoriadis, D. E. y Foster, A. C. (2007). Ansiedad. *Química Médica Integral II*, 85-115. doi:10.1016/b0-08-045044-x/00164-4
14. Herrera-Ruiz M, González-Cortazar M, Jiménez-Ferrer E, Zamilpa A, Álvarez L, Ramírez G, Tortoriello J, (2006). Anxiolytic effect of natural galphimines from *Galphimia glauca* and their chemical derivatives. *J Nat Prod*; 69: 59–61.
15. I.González Mariscal, F. Bermúdez Silva, J. Kerr-Conte, F. Pattou, J. Egan y M. Ruiz de Adana (2022). El bloqueo del receptor de cannabinoide 1 frena la insulinitis y protege el islote en un nuevo modelo ex vivo de inflamación en islotes humanos. Disponible en: [es-revista-endocrinologia-diabetes-nutricion-13-congresos-xxxiii-congreso-sociedad-espanola-diabetes-144-sesion-sesion-oral-08-tratamiento-de-6967-comunicacion-el-bloqueo-del-receptor-de-84239-pdf \(elsevier.es\)](https://es-revista-endocrinologia-diabetes-nutricion-13-congresos-xxxiii-congreso-sociedad-espanola-diabetes-144-sesion-sesion-oral-08-tratamiento-de-6967-comunicacion-el-bloqueo-del-receptor-de-84239-pdf(elsevier.es))
16. INEGI. (2021). RESULTADOS DE LA PRIMERA ENCUESTA NACIONAL DE BIENESTAR AUTORREPORTADO (ENBIARE). Recuperado el 20 de junio de 2022, de <https://www.inegi.org.mx/programas/enbiare/2021/default.html>.
17. J. Arias-Díaz y J. Balibrea (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2, *22(2)*:160-68. Disponible en: [NUTR HOSP 2-2007.pdf \(isciii.es\)](https://www.isciii.es/NUTR_HOSP_2-2007.pdf)
18. Jerzy Rzedowski y Graciela Calderón de Rzedowsk (1997) Subfamilia Caesalpinioideae, disponible en: [L\\_electronico 51 PM \(inecol.edu.mx\)](http://www.inecol.edu.mx/L_electronico_51_PM).
19. John F. Cryan ,Cedric Mombereau, Annick Vassout (2005): La prueba de suspensión de cola como modelo para evaluar la actividad antidepresiva: revisión de estudios farmacológicos y genéticos en ratones, disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15890404/>
20. Karina Lara Cruz (2018): Efecto del extracto de *Bauhinia* sp. sobre la pérdida de peso corporal, la ingesta de alimento, las concentraciones de glucosa e inflamación en ratones hembra hiperandrogenizada; Facultad de Ciencias Biológicas, disponible en: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/7799/586618t.pdf?sequence=1&isallowed=y>
21. Martínez-García, J. A., Aguirre-Barbosa, M., Mancilla-Hernández, E., del RocíoHernández-Morales, M., & Guerrero-Cabrera, M. B. (2022). Prevalence of 19 depression, anxiety, and associated factors in residents from hospital centers during COVID-19 pandemic. *Revista Alergia de México*, 69(1), 1–6. <https://doi.org/10.29262/ram.v69i1.903>
22. Montero Molina S., (2019). Expresión inducible de Hppay en el hígado de ratones c57bl/6 con diabetes mellitus tipo 2 disponible en: [1080240433.pdf \(uanl.mx\)](https://uanl.mx/1080240433.pdf)
23. OMS. (2022). La OMS subraya la urgencia de transformar la salud mental y los cuidados conexos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/17-06-2022-whohighlights-urgent-need-to-transform-mental-health-and-mental-health-care>
24. Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Modelos animales de Diabetes Mellitus. *Department of -Medicine, University of Wales*, 359-370.

25. Saskia A., Van Accker, Bast A (1998). Estructural Aspects of antioxidant activity of flavonoids. En: Flavonoids in health and disease. 9:221-251.
26. Shao, S., Cui, Y., Chen, Z.-B., Zhang, B., Huang, S.-M., & Liu, X.-W. (2020). Androgen deficit changes the response to antidepressant drugs in tail suspension test in mice. *The Aging Male: The Official Journal of the International Society for the Study of the Aging Male*, 23(5), 1259–1265.  
<https://doi.org/10.1080/13685538.2020.1762074>
27. Suárez (1981). An ethological analysis of open field behavior in rats and mice. *Learning and motivation*, 12, (342-363)
28. Vaishnav Krishnan y Eric J. Nestler (2012): Modelos animales de depresión: perspectivas moleculares, disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3270071/?fbclid=IwAR3Wuqf1TqeTdl8f01M5mPsZWZihe1GSTjRWyvkTntQ5Piyuk59f4tVXE84>
29. Vincent Castagné, Paul Moser y Roger D. Porsolt. Evaluación conductual de la actividad antidepressiva en roedores, disponible en  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5222/?fbclid=IwAR1mVXhWCTB16dnZPdAr6tOsBkkQuUN0uKkEI3OGn3Cf60bggbXIRjLxhdY>