



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO HIPOGLUCÉMICO E HIPOLIPIDÉMICO *IN VIVO* E
IN VITRO DE LAS INFUSIONES DE TORONJA (*Citrus
paradisî*), ALBAHACA (*Ocium santum* L.) Y JAMAICA
(*Hibiscus sabdariffa*)”**

TESIS INDIVIDUAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

MAYRA DANIELA VÁZQUEZ LOYOLA

DIRIGIDA POR

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2014.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO HIPOGLUCÉMICO E HIPOLIPIDÉMICO *IN VIVO* E
IN VITRO DE LAS INFUSIONES DE TORONJA (*Citrus
paradisî*), ALBAHACA (*Ocium santum* L.) Y JAMAICA
(*Hibiscus sabdariffa*)”**

**TESIS INDIVIDUAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

MAYRA DANIELA VÁZQUEZ LOYOLA

DIRIGIDO POR

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

SINODALES

Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO

DIRECTOR

Dra. SILVIA LORENA AMAYA LLANO

SINODAL PROPIETARIO

Dra. MINERVA RAMOS GÓMEZ

SINODAL PROPIETARIO

Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO

SINODAL SUPLENTE

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Obesidad y su prevalencia	2
1.2 Complicaciones de la obesidad	2
1.2.1 Obesidad y dislipidemias	3
1.2.2 Obesidad y diabetes	3
1.2.3 Obesidad y consumo de calorías provenientes de bebidas	4
1.2.4 Infusiones	5
1.2.4.1 Toronja (<i>Citrus paradisi</i>)	6
1.2.4.2 Albahaca morada (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	8
1.2.4.3 Flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	9
2. JUSTIFICACIÓN	11
3. HIPÓTESIS	12
4. OBJETIVOS	13
4.1 General	13
4.2 Específicos	13
5. METODOLOGÍA	14
5.1 Materiales	14
5.1.1. Material de prueba	14
5.1.2 Preparación de las infusiones	14
5.1.3 Cuantificación de compuestos fenólicos	15
5.1.3.1 Cuantificación de fenoles totales	15

5.1.3.2	Cuantificación de antocianinas totales	15
5.1.3.3	Cuantificación de flavonoides totales	15
5.1.4	Evaluaciones <i>in vitro</i>	16
5.1.4.1	Evaluación de las capacidades antioxidantes	16
5.1.4.1.1	Capacidad de atrapamiento del radical ABTS	16
5.1.4.1.2	Capacidad de atrapamiento de radical DPPH	16
5.1.4.1.2	Inhibición de la formación del radical óxido nítrico	17
5.1.4.2	Capacidad de inhibición de enzimas digestivas	17
5.1.4.2.1	Inhibición de la α -amilasa	17
5.1.4.2.2	Inhibición de la α -glucosidasa	17
5.1.4.2.3	Inhibición de la lipasa pancreática	18
5.1.5	Evaluación <i>in vivo</i>	18
5.1.5.1	Estudio crónico sobre las propiedades hipoglucemiantes e hipolipidémicas	18
5.1.5.1.1	Animales	18
5.1.5.1.2	Dieta	18
5.1.5.1.3	Grupos experimentales	19
5.1.5.1.4	Evaluación de la ganancia de peso	20
5.1.5.1.5	Efecto hipoglucémico	20
5.1.5.1.6	Efecto hipolipidémico	20
5.1.5.2	Estudio agudo sobre las propiedades hipoglucemiantes e hipolipidémicas	20
5.1.5.2.1	Animales	20
5.1.5.2.2	Prueba de tolerancia al	21

	almidón	
	5.1.5.2.3 Prueba de tolerancia a los lípidos	21
	5.2 Análisis estadístico	21
6. RESULTADOS		22
6.1 Compuestos fenólicos		22
6.2 Evaluaciones <i>in vitro</i>		22
6.2.1 Capacidad antioxidante		22
6.2.2 Inhibición de enzimas		23
6.2.2.1 Capacidad de inhibición de las enzimas de α -glucosidasa		23
6.2.3 Capacidad de inhibición de la enzima lipasa pancreática		25
6.3 Evaluación <i>in vivo</i>		25
6.3.1 Estudio crónico		25
6.3.1.1 Evaluación del incremento o disminución de peso		25
6.3.1.2 Efecto hipoglucémico		26
6.3.1.2 Efecto hipolipidémico		27
6.3.2 Estudio agudo		28
6.3.2.1 Curva de tolerancia a la glucosa		28
6.3.2.2 Curva de tolerancia a los lípidos		30
6.3.3 Coeficientes de correlación de compuestos fenólicos, evaluaciones <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>		31
7. DISCUSIONES		34
8. CONCLUSIONES		39
9. REFERENCIAS		40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Grupos experimentales	19
2	Contenido total de compuestos fenólicos en infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. santum</i> y <i>H. sabdariffa</i>	22
3	Capacidad antioxidante de las infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. santum</i> y <i>H. sabdariffa</i>	23
4	Consumo de alimento e infusión de ratas obesas inducidas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada.	27
5	Glucosa e insulina en suero, y valores de HOMA de ratas obesas tratadas con infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. santum</i> y <i>H. sabdariffa</i>	27
6	Correlaciones de Pearson de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas	33
7	Correlaciones de Pearson de compuestos fenólicos y curvas de tolerancia al almidón y a los triglicéridos	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Sobrepeso y obesidad en México	2
2	Prevalencia de consumo de refresco en México	5
3	Toronja (<i>Citrus paradisi</i>)	7
4	Albahaca morada (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	8
5	Flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	10
6	Efecto de las infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. sanctum</i> y <i>H. sabdariffa</i> en la capacidad inhibitoria de la enzima α -amilasa	24
7	Efecto de las infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. sanctum</i> y <i>H. sabdariffa</i> en la capacidad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa	24
8	Efecto de las infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. sanctum</i> y <i>H. sabdariffa</i> en la capacidad inhibitoria de la enzima lipasa pancreática	25
9	Ganancia de peso corporal de ratas obesa alimentadas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, y tratadas con infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. sanctum</i> y <i>H. sabdariffa</i>	26
10	Triglicéridos en suero de ratas obesas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, y tratadas con infusiones	28
11	Efecto de las infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. sanctum</i> y <i>H. sabdariffa</i> sobre la curva de tolerancia al almidón	29
12	Área bajo la curva de ratas tratadas con almidón e infusiones	30
13	Efecto de las infusiones de <i>C. paradisi</i> , <i>O. sanctum</i> y <i>H. sabdariffa</i> sobre la curva de tolerancia a los triglicéridos	31
14	Área bajo la curva de las ratas tratadas con aceite de maíz e infusiones.	32

RESUMEN

Actualmente la obesidad es uno de los retos más importantes de salud pública en México y el resto del mundo, dada su magnitud, la rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejerce sobre la salud de la población que lo padece, ya que incrementa el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). La obesidad se puede controlar a través de varios factores, uno de ellos es el cambio de la dieta hacia un aumento del consumo de alimentos hipocalóricos, destacando las bebidas. Es por ello la búsqueda de un sustituto de éstas, que sean ricas en compuestos bioactivos, por ejemplo las infusiones. En el presente trabajo se llevó a cabo un estudio de las infusiones de *Hibiscus sabdariffa*, *Citrus paradisi* y *Ocimum sanctum* L. con respecto al contenido de sus compuestos polifenólicos y su capacidad antioxidante, así como a su capacidad de inhibición de las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática. Además, dichas infusiones se administraron como un sustituto de agua a ratas obesas alimentadas con una dieta alta en fructosa y grasa saturada por cuatro meses, y se determinó el efecto de dichas infusiones en la disminución de peso corporal, glucosa y triglicéridos, así como la resistencia a la insulina. La infusión de *H. sabdariffa* mostró un efecto positivo en la disminución de peso corporal, aunado a ello, esta infusión y la infusión de *O. sanctum* L. presentaron la mayor actividad antioxidante y redujeron la hiperglucemia e hipertrigliceridemia posprandial, lo que se relacionó parcialmente con su capacidad para inhibir las actividades de α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática. Estos resultados sugieren que estas infusiones se pueden utilizar como una alternativa para el tratamiento de la obesidad.

ANTECEDENTES

1.1 Obesidad y su prevalencia

La obesidad es una enfermedad multifactorial definida por la OMS como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, siendo la causa fundamental un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas (Barrera y col., 2013).

La obesidad es un problema muy importante a nivel mundial debido a la rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejerce sobre la salud de la población que la padece, de tal manera que se ha convertido en un problema de salud pública (Romero y col., 2007; Blancas y col., 2009; Barrera y col., 2013).

El incremento tan abrupto de la obesidad y su gran extensión obedecen principalmente a cambios en la alimentación, La obesidad se debe a varios factores, como el cambio generalizado de la dieta hacia un aumento del consumo de alimentos hipercalóricos (que son ricos en calorías, grasas, sales y azúcares, pero pobres en vitaminas, minerales y otros micronutrientes), la tendencia a la disminución de la actividad física ocasionada por el carácter sedentario del trabajo actual, el cambio de los medios de transporte y la creciente urbanización, entre otros.

Actualmente, México y Estados Unidos, ocupan los primeros lugares de prevalencia mundial de obesidad en la población adulta (30%), la cual es diez veces mayor que la de países como Japón y Corea (4%). En nuestro país, las tendencias de sobrepeso y obesidad en las diferentes encuestas nacionales muestran un incremento constante de la prevalencia a través del tiempo (Barrera y col., 2013).

Para caracterizar el estado actual de este problema, en 2012 ENSANUT evaluó a 38 208 personas adultas, que representan a más de 69 millones de mexicanos, de la cual se concluyó que la prevalencia de obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) en México en adultos fue de 32.4 y de sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) de 38.84, presentándose con

más frecuencia en el género femenino (37.5%) que en el masculino (26.8%) (Figura 1) (Barquera y col., 2012).

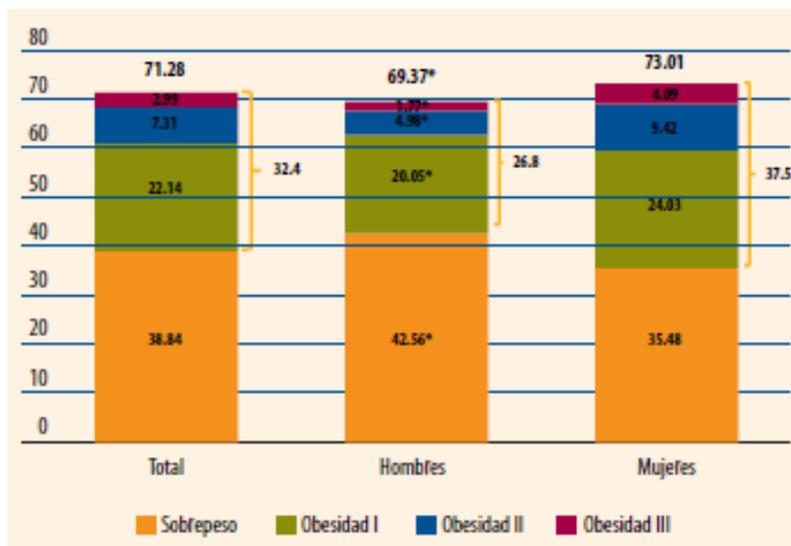


Figura 1. Sobrepeso y obesidad en México (Barquera y col., 2012).

1.2 Complicaciones de la obesidad

En la obesidad se presentan alteraciones en la respuesta inmunitaria, ya que se presenta un estado inflamatorio que suele ser crónico y de bajo grado de intensidad, el cual se vincula con el desarrollo de enfermedades tales como hipertensión arterial, diabetes tipo 2, dislipidemia (el aumento del colesterol LDL y de triglicéridos y la disminución del colesterol HDL), síndrome metabólico, varios tipos de neoplasias malignas y enfermedades cardiovasculares; estas últimas contribuyen a la primera causa de muerte en México (Rosas y Attie, 2007; Luckie y col., 2009; Blancas y col., 2010; Parreño y Gutiérrez, 2010).

En la medida en que aumenta el peso corporal, aumenta la producción de citocinas y ácidos grasos con efectos sobre la insulina, disminuyendo la sensibilidad a esta hormona. Esto trae como consecuencia cambios en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, lo que finalmente deriva en alteraciones de la pared y el tono vascular, dando origen a las complicaciones anteriormente mencionadas (Rodríguez, 2004).

1.2.1 Obesidad y dislipidemias

Diversos estudios han demostrado la relación entre los niveles altos de colesterol y triglicéridos (dislipidemias) con la obesidad (Parreño y Gutiérrez, 2010). El colesterol y los triglicéridos son las dos sustancias lipídicas que se encuentran en mayor concentración en la sangre. Los niveles elevados de triglicéridos no son un factor de riesgo cardiovascular, pero si constituyen un marcador de riesgo vascular cuando se asocia con otros factores de riesgo mayores, emergentes y vinculados a los hábitos de vida (Farina, 2009).

El perfil lipídico más común observado en el paciente obeso es un incremento en los triglicéridos expresado en un aumento de las cifras de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y una disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). En la obesidad, se da un flujo de ácidos grasos libres hacia el hígado, los cuales estimulan la síntesis de VLDL, ricas en TG. Este aumento de las VLDL trae consigo una disminución de las HDL, porque en presencia de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol, se estimula la transferencia de TG de las VLDL a las HDL en intercambio con el colesterol de éstas (Rodríguez, 2004).

La investigación realizado por Romero y colaboradores en 2007, con un grupo de edad promedio de 9.8 ± 2.7 años, demostró la asociación de obesidad con valores anormales de colesterol, triglicéridos, LDL y HDL. En otro estudio realizado con adolescentes mexicanos se reportó una prevalencia de dislipidemias de 56.6 % en adolescentes con obesidad, en comparación con 20.8 % en adolescentes sin obesidad. De los diversos estudios realizados al respecto se observa que las dislipidemias se inician desde edades tempranas de la vida y constituye un factor de gran importancia para la etapa adulta (Daccarett y col., 2007).

1.2.2 Obesidad y diabetes

Durante la obesidad, el tejido adiposo secreta grandes cantidades de adipocinas creando un ambiente proinflamatorio. Entre las adipocinas se encuentran el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina 6 y se producen en mayor cantidad en el tejido adiposo visceral que en el subcutáneo. Estas citocinas proinflamatorias se

encuentran involucradas en la resistencia a la insulina, ya que entre otros mecanismos, interfieren con la ruta de la señalización de la insulina. Durante la obesidad existe un estado de estrés oxidativo caracterizado por elevadas cantidades de especies reactivas de oxígeno, el cual se ha asociado con la resistencia a la insulina y con la diabetes mellitus (Acosta, 2012).

La diabetes mellitus tipo 2 representa entre el 85 y 90% de los casos de diabetes, y su aparición se asocia a cambios en el estilo de vida que van desde la migración de las poblaciones a las áreas más urbanizadas, hasta la presencia de obesidad y de sedentarismo. La incidencia de diabetes mellitus tipo 2 aumenta con la edad y, en varias poblaciones es mayor la prevalencia en hombres que en mujeres (Eckel, 2006; American Heart Association, 2012).

Debido a la resistencia a la insulina, el hígado activa la síntesis de glucosa mediante la gluconeogénesis, aumentando de esta manera los niveles plasmáticos de glucosa y generando que las células β pancreáticas las cuales son las encargadas de secretar insulina, aumenten la secreción de esta hormona. Este estado de hiperinsulinemia en el páncreas puede inducir un proceso de oxidación provocando la apoptosis de las células β pancreáticas, que puede complicar el estado de diabetes (Eckel, 2006; Cañete, 2007).

1.2.3 Obesidad y consumo de calorías provenientes de bebidas

Hay evidencia científica de que la ingesta de bebidas calóricas, principalmente bebidas azucaradas, jugos y leche entera, aumentan el riesgo de obesidad. Estudios sobre sensaciones de hambre y apetito muestran que los líquidos tienen menor capacidad para producir saciedad que los alimentos sólidos; esto sugiere que la ingesta de energía a partir de bebidas no se acompañe de regulación eficiente del apetito, lo que contribuye al aumento de peso (Rivera y col., 2008).

El incremento en el consumo y disponibilidad de bebidas calóricas y alimentos industrializados se refleja en la Encuesta Nacional de Salud en Escolares realizada

en 2008. Tanto en los hogares como en los centros laborales y planteles educativos, se consumen altos niveles de alimentos y bebidas con bajo valor nutrimental. Conforme a un análisis efectuado por la COFEMER a nivel de hogares, estos tuvieron un gasto de refresco de 58% en 2002, mostrando una tendencia a la alza y alcanzando el 62% en 2008 (Figura 2) (COFEMER, 2012).

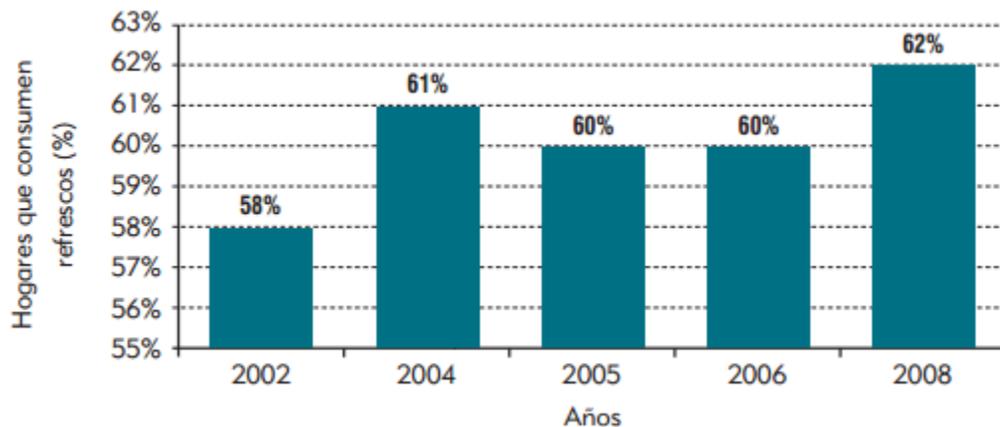


Figura 2. Prevalencia de consumo de refresco en México (COFEMER, 2012).

Debido a este incremento y las complicaciones que se desarrollan, se crearon las “Recomendaciones sobre el consumo de bebidas para la población mexicana”, las cuales propone lineamientos para satisfacer la mayor cantidad posible de las necesidades diarias de líquidos a través de agua y otras bebidas con bajo contenido energético y un adecuado perfil nutrimental (Rivera y col., 2008).

La Secretaría de Salud recomienda un consumo de alimentos con bajo contenido calórico, así como un alto consumo de compuestos antioxidantes, tales como las vitaminas A, C y E, compuestos fenólicos como flavonoides, entre otros; debido a las evidencias que los relacionan con la reducción del estrés oxidativo y obesidad (Secretaría de Salud, 2006).

1.2.4 Infusiones

En México, la ingesta de bebidas medicinales obtenidas por la cocción de hojas y flores deshidratadas es anterior a la conquista y perdura hasta nuestros días,

registrándose un incremento hacia 2014 del consumo de las infusiones, debido a sus cualidades para la salud y nutrición (Hurtado y col., 2012).

Con respecto a estas plantas que han ayudado a curar enfermedades del hombre a través de la historia aún queda mucho por estudiar, especialmente a nivel químico y molecular. Conocer la estructura química de los compuestos de interés farmacéutico presente en ellas y su función, es el objetivo de muchos investigadores (Montes y col., 1992).

El té y las infusiones son bebidas preparadas con agua a punto de hervir y hojas secas, partes de flores o hierbas aromáticas. La diferencia entre té o infusión consiste en que se le denomina té a la bebida elaborada con una planta llamada *Camelia sinensis* pero básicamente un té es una infusión.

El té o infusión provee una variedad de flavonoides y antioxidantes, así como micronutrientes y algunos aminoácidos (Rivera y col., 2008). Estas bebidas ricas en polifenoles y antioxidantes, son bajas en azúcares simples, y pueden ser una opción para reemplazar el consumo de refrescos y otras bebidas calóricas, así como, para aumentar el consumo de compuestos bioactivos con propiedades benéficas (Hervert, 2011).

1.2.4.1 Toronja (*Citrus paradisi*)

Citrus paradisi pertenece al género *Citrus* de la familia Rutaceae. Su historia comienza en las Antillas al principio del siglo XIX, es originaria de la isla de Barbados. La toronja también se cultiva en España, Marruecos, Israel, Jordania, Sudáfrica, Brasil, México, Jamaica y Asia. Hoy en día es el segundo cítrico más importante en todo el mundo (León, 2000; Gupta y col., 2011).

Se caracteriza por producir un fruto ovalado de 8 a 15 cm de diámetro, cáscara delgada; pulpa amarilla o rosada de sabor ligeramente amargo (Figura 5) (León, 2000).

La toronja se ha utilizado en la medicina popular como antibacteriano, antihongos, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, antiviral, astringente y conservante. También se ha utilizado en la prevención de cáncer, la regeneración celular, reducción de colesterol, lupus nefritis, artritis reumatoide y para la pérdida de peso (Gupta y col., 2011).



Figura 3. Toronja (*Citrus paradisi*).

En 2006, Fujioka y colaboradores realizaron un estudio para ver el efecto de la toronja y los productos de toronja sobre la disminución de peso. Dicho estudio se realizó con 91 pacientes obesos. El primer grupo recibió cápsulas de placebo con 207 ml de jugo de manzana; el segundo, cápsulas de toronja con 207 ml de jugo de manzana; el tercero, 237 ml de jugo de toronja con cápsula de placebo y el cuarto: la mitad de una toronja fresca con una cápsula de placebo, tres veces al día antes de cada comida. Después de doce semanas, el grupo de toronja fresca había perdido 1.6 kg, el grupo de jugo de toronja 1.5 kg, el grupo de cápsulas de toronja 1.1 kg y el del grupo placebo 0.3 kg. El grupo de toronja fresca perdió significativamente más peso que el grupo de placebo ($P < 0.05$).

Como ya mencionó, los principales compuestos flavonoides con actividad biológica encontrados en *Citrus paradisi* son la naringina y hesperidina (Del Río y Ortuño,

1994; Ortuño y col., 1995). La naringina ejerce una capacidad antioxidante contra la oxidación lípidica (Francis y col., 1989); mientras que, la hesperidina mejora la permeabilidad vascular incrementando la resistencia capilar y muestra propiedades analgésicas y antiinflamatorias (Gabor, 1988; Emim y col., 1994). La hesperidina es un potente antioxidante y ha demostrado actividad anticancerígena *in vitro* (Fujiki y col., 1986; Berkarda y col., 1998).

Otros componentes reportados en el fruto son el ácido ascórbico, málico, oxálico y el cítrico (Fujioka y col., 2006; Owira y Ojewole, 2009; Haze y col., 2010).

1.2.4.2 Albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.)

La albahaca morada es una hierba nativa de los trópicos del "viejo mundo", naturalizada en Cuba. *Ocimum sanctum* L. pertenece a la familia Lamiaceae, es una hierba aromática, pubescente de hasta 70 cm de altura (Figura 6). Se utiliza tanto de forma culinaria como ornamental (Morales y col., 1996; Tada y col., 1996).



Figura 4. Albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.).

En Cuba la albahaca se ha utilizado mucho por la medicina popular para la fiebre y los catarros; también como calmante y diurética. Hace algunos años se ha intensificado su estudio en Cuba y otros países por su acción hipoglicémica (Pérez y col., 1996).

Se han evaluado otros efectos farmacológicos, entre los que se incluyen su capacidad inmunomodulador, antiestrés, hepatoprotector, antiinflamatorio y analgésico (Carmona y col., 2009).

Las propiedades terapéuticas de la albahaca se centran en sus hojas, que se pueden utilizar en infusión a partir de la planta seca o fresca, y en sus flores que concentran gran parte del aceite esencial (Díaz y col., 1996).

Dentro de los compuestos con actividad biológica encontrados en la albahaca morada están los polifenoles (Juliani y Simons, 2002), principalmente el ácido cafeíco, ácido clorogénico, ácido rosmarínico, luteolina, el kaemferol, entre otros (Jayasinghe y col., 2003).

1.2.4.3 Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es una planta originaria de la India que fue propagada a zonas tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. En México, la jamaica fue introducida por los españoles, se cultiva en regiones tropicales cálidas y semicálidas, actualmente en los estados de Campeche, Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca y Puebla (Pérez y col., 2009).

Es una planta herbácea con flores de color rojo en la base y más pálido en los extremos, contienen un cáliz carnosos y generalmente de un color rojo intenso (Figura 4). Los cálices son lo más destacable de la planta, se dejan secar para su uso principalmente como colorante alimentario, fabricación de jarabes y para la preparación de una bebida ligeramente ácida y refrescante conocida como “agua de jamaica” en México (Ságayo y Goñi, 2010).

La infusión de *Hibiscus sabdariffa* es una bebida muy popular en muchos lugares del mundo. Su composición fitoquímica se asocia a efectos antioxidantes, hipotensores y antiateroscleróticos (Guardiola y Mach, 2013).



Figura 5. Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

La flor de jamaica está compuesta, entre otros elementos, por ácido fenólico, flavonoides, antocianinas y polifenoles, como las antocianinas delfinidina-3-glucósido y la cianidina-3-glucósido. A todos estos compuestos antioxidantes se les atribuyen sus efectos antiinflamatorios, cardioprotectores y reguladores de colesterol (Badreldin y col., 2005). Aunado a ello se reporta que las antocianinas son altamente reductoras, por lo que exhiben fuerte actividad antioxidante, y su consumo puede proteger al organismo contra daños provocados por los radicales libres y la peroxidación de los lípidos (Tsai y col., 2002). Otros estudios han reportado que su ingesta inhibe el desarrollo de algunos tipos de cáncer, enfermedades coronarias, arteriosclerosis y disminución de triglicéridos en pacientes con síndrome metabólico (Chen y col., 2004; Hirunpanich y col., 2006, Gurrola–Díaz y col., 2010).

2. JUSTIFICACIÓN

La sociedad mexicana presenta un problema de salud derivado del sobrepeso y la obesidad, donde a nivel mundial nuestro país ocupa el primer lugar en adultos y segundo en niños y adolescentes. La obesidad y sobrepeso están estrechamente relacionados con el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes y problemas cardiovasculares, enfermedades que se han convertido en la última década en las principales causas de muerte.

Las dietas con un alto contenido calórico pueden ocasionar un exceso de consumo de energía reflejándose en la ganancia de grasa corporal en el consumidor. En nuestro país, las bebidas con altas concentraciones de azúcares aportan más del 20% de las calorías de la dieta. Por lo tanto, se han establecido recomendaciones para satisfacer la mayor cantidad posible de las necesidades diarias de líquidos a través del agua y otras bebidas con bajo contenido energético, como las infusiones.

Las infusiones naturales son bebidas que ofrecen al consumidor grandes beneficios, principalmente por sus propiedades antioxidantes. Las infusiones se consideran una bebida económica y de fácil acceso para toda la población, donde puede llegar a ser la única fuente importante de antioxidantes exógenos.

Se ha reportado que varias hierbas y flores tienen propiedades antiobesogénicas, anti-inflamatorias y antioxidantes, y éstas pueden ser una alternativa para el tratamiento de obesidad.

Por lo tanto, este trabajo se enfocó en analizar infusiones de tres diferentes materiales vegetales utilizadas en nuestro país como alternativa auxiliar en el control de estas enfermedades.

3. HIPÓTESIS

Las infusiones de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), toronja (*Citrus paradisi*) y albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) presentan propiedades hipoglucémicas e hipolipidémicas debido a sus compuestos fenólicos.

4. OBJETIVOS

4.1 General

- Evaluar el efecto del consumo de bebidas funcionales (infusiones) en el control de hiperglucemia e hiperlipidemia en un modelo de obesidad inducido por dieta y determinar su asociación con compuestos fenólicos.

4.2 Específicos

- Cuantificar las concentraciones de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante *in vitro* de las infusiones en estudio.
- Evaluar *in vitro* la capacidad de las infusiones para inhibir las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática.
- Determinar el efecto *in vivo* agudo y crónico de las infusiones sobre el control de glucosa y triglicéridos.
- Correlacionar los efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos con el contenido de compuestos fenólicos.

5. METODOLOGÍA

5.1 Materiales

5.1.1. Material de prueba

Se emplearon las flores, el fruto y las hojas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), toronja (*Citrus paradisi*) y albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) respectivamente. La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) se adquirió de Santo Domingo, Gro., y la toronja en Apatzingán, Mich., ambos materiales provenientes de agricultores dedicados al cultivo y comercialización de dichos materiales. La albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) se obtuvo de la empresa “Floraplant S.A. de C.V.”, y se sembró a cielo abierto en el invernadero del área de posgrado de la Facultad de Química, UAQ.

5.1.2 Preparación de las infusiones

La flor de Jamaica fue sometida a un secado bajo el sol a condiciones ambientales por los mismos productores de este material. Para la toronja y la albahaca morada, se llevó a cabo un secado a 50°C en estufa, donde el proceso duró aproximadamente de seis a ocho horas para la toronja y de cuatro a seis horas para albahaca; la toronja se fraccionó en rebanadas de 2 a 3 mm de espesor para un mejor proceso de secado.

La flor de jamaica, toronja y albahaca morada, fueron sometidas a una molienda a un tamaño de partícula aproximado de 1-1.5 mm de acuerdo al tamaño reportado en la industria para té comercial.

La preparación de las infusiones consistió en agregar 1 g de material seco y molido a 100 mL de agua en ebullición, la concentración de la infusión fue al 1%. Posteriormente se dejó reposar durante 10 min a temperatura ambiente, se filtró y se dejó enfriar.

5.1.3 Cuantificación de compuestos fenólicos

5.1.3.1 Cuantificación de fenoles totales

Se tomó una alícuota de 20 μL de cada muestra y se llevó a un volumen final de 250 μL , se adicionó 125 μL del reactivo de Folin Coicalteu 1N y 625 μL de carbonato de sodio (20%). Se dejó reposar la mezcla en la oscuridad a temperatura ambiente durante 2 h, tras lo cual se realizó la medición de las absorbancias a 760 nm en un espectrofotómetro (Singleton y col., 1999). La cuantificación de los fenoles totales fue se realizó utilizando ácido gálico como estándar y los resultados se expresaron como microgramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca ($\mu\text{g CE/g}$).

5.1.3.2 Cuantificación de antocianinas totales

Se tomó una alícuota de 200 μL de cada muestra y se adicionaron 700 μL de cada solución tampón: cloruro de potasio (0.025 M, pH 1) y acetato de sodio (0.4 M, pH 4,5). Se realizó la medición de las absorbancias a 510 y 700 nm en un espectrofotómetro. La cuantificación de las antocianinas se determinó por medio de las ecuaciones 1 y 2 (Giusti y col., 2001).

$$Abs_{total} = Abs_{510\text{ nm}} - Abs_{700\text{ nm pH } 1} - Abs_{510\text{ nm}} - Abs_{700\text{ nm pH } 4,5} \quad (1)$$

$$Antocianinas\ totales = Abs_{total} * PM * FD \quad \epsilon * d \quad (2)$$

Dónde, Abs representa las absorbancias, ϵ es el coeficiente de extinción molar (26,900), PM es el peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,2) y C es la concentración de la muestra. Los resultados se expresaron como microgramos de equivalentes de cianidina-3-glucósido por gramo de muestra seca (C3GE $\mu\text{g/g}$).

5.1.3.3 Cuantificación de flavonoides totales

Se tomó una alícuota de 25 μL de cada muestra y se adicionaron 75 μL de nitrito de sodio al 5%, 150 μL de cloruro de aluminio al 10% y 500 μL de hidróxido de sodio 1

M. Se dejó reposar la mezcla en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min, tras lo cual se realizó la medición de las absorbancias a 510 nm en un espectrofotómetro (Liu, 2002). Los resultados se expresaron como microgramos de equivalentes de catequina por gramo de muestra seca ($\mu\text{g/g CE}$).

5.1.4 Evaluaciones *in vitro*

5.1.4.1 Evaluación de las capacidades antioxidantes

5.1.4.1.1. Capacidad de atrapamiento del radical ABTS

El radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazol-6-sulfónico) ($\text{ABTS}^{•+}$) fue disuelto en agua a una concentración de 7 mM, y se hizo reaccionar con 2.45 mM de persulfato de potasio, enseguida se incubó la mezcla en la oscuridad durante 12 h. Posteriormente, se diluyó la solución de ABTS con amortiguador de fosfatos (pH 7.4) hasta obtener una absorbancia de 0.70 (± 0.02) a 734 nm. Se adicionó 1 mL de la solución diluida de ABTS a 10 μL de diversas concentraciones de cada muestra y se realizó la medición de las absorbancias a 734 nm en un espectrofotómetro (Re y col., 1999). La capacidad antioxidante se expresa como la capacidad inhibitoria media (IC_{50}), la cual representa la concentración requerida para inhibir la reacción al 50%.

5.1.4.1.2 Capacidad de atrapamiento del radical DPPH

El radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH) fue disuelto en metanol hasta obtener una absorbancia de 0.75 (± 0.03) a 515 nm. Se adicionaron 50 μL de diversas concentraciones de cada muestra a 450 μL de la solución diluida de DPPH y se realizó la medición de las absorbancias a 515 nm en un espectrofotómetro (Re y col., 1999). La capacidad antioxidante se expresa como la capacidad inhibitoria media (IC_{50}).

5.1.4.1.3 Inhibición de la formación del radical óxido nítrico

Para establecer la habilidad de los extractos para capturar el radical óxido nítrico (NO \cdot), se aplicó la metodología seguida por Giraldo *et al.* (2003), con algunas modificaciones. Se prepararon diferentes concentraciones del extracto para calcular la concentración inhibitoria media (IC₅₀), a cada tubo se le agregó agua destilada para completar un volumen de 1 mL, inmediatamente se adicionó 0.2 mL de nitroprusiato de sodio (113 mM), se agitó y se dejó incubar a temperatura ambiente (150 min), después de este tiempo se agregó el reactivo de Griess, primero 0.4 mL del reactivo A (ácido sulfanílico al 1% en ácido fosfórico al 5%) y 15 min después se adicionó 0.4 mL del reactivo B (N-1 naftiletilediamina al 0.1% en agua destilada), los tubos se dejaron en reposo durante 10 min, y se midió la absorbancia a 546 nm. Las lecturas de absorbancia decrecen con el aumento de la actividad antinitrosativa.

5.1.4.2 Capacidad de inhibición de enzimas digestivas

5.1.4.2.1 Inhibición de la α -amilasa

La enzima α -amilasa fue disuelta en una solución amortiguadora de fosfatos (40 mM, pH 6.9), la cual consiste de 0.4 g/L de almidón y diversas concentraciones de cada muestra. La mezcla se incubó a 37 °C durante 39 min, tras lo cual las muestras se diluyeron en metanol (1:4) y centrifugaron a 700 g durante 10 min. Se realizó la cuantificación de glucosa por medio del método de glucosa oxidasa a 300 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

5.1.4.2.2 Inhibición de la α -glucosidasa

1 U/mL de la enzima α -glucosidasa se disolvió en una solución amortiguadora de fosfatos (100 mM; pH 6.9) conteniendo 5 mM de p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido y diversas concentraciones de cada muestra. La mezcla se incubó a 25 °C durante 15 min y centrifugó a 700g durante 10 min (Apostolidis y col., 2007). Se realizó la

cuantificación de glucosa por medio del método de glucosa oxidada a 300 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

5.1.4.2.3 Inhibición de la lipasa pancreática

10 mg de lipasa pancreática porcina fue disuelta en 1 mL de agua destilada y se centrifugó a 16 000 rpm durante 5 min. 150 μ L del sobrenadante se diluyeron en 400 μ L de una solución amortiguadora de Tris (100 mM; pH 8.2), el cual contiene 450 μ L de p-nitrofenil laurato y diversas concentraciones de cada muestra. La mezcla se incubó a 37 °C durante 2 h y se centrifugó a 16 000 rpm durante 2.5 min (McDougall y col., 2009). Se realizó la cuantificación del glicerol oxidado a 570 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

5.1.5 Evaluación *in vivo*

5.1.5.1 Estudio crónico sobre las propiedades hipoglucemiantes e hipolipidémicas

5.1.5.1.1 Animales

Se utilizaron 37 ratas macho Sprague-Dawley de ocho semanas de edad, con un peso promedio de 260 ± 20 g. Dichos animales se mantuvieron en un lugar con periodos de luz y oscuridad de 12 h a lo largo de la fase experimental con acceso *ad libitum* al agua y alimento.

5.1.5.1.2 Dieta

Se proporcionó una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada. El contenido nutrimental de la dieta fue distribuido con un total de 434.7 kilocalorías, de las cuales el 14.13% corresponde a contenido de proteínas, 45.0% carbohidratos y 40.0% lípidos, de estos últimos el 37.98% son saturados, 44.7% monoinsaturados y 17.2% poliinsaturados.

La dieta fue constituida por un 70% de alimento base, 16% de manteca de cerdo y 14% de fructosa. El alimento base (croqueta comercial para rata marca nu3lab 22-

5) se molió y posteriormente se mezcló con cada uno de los ingredientes mencionados anteriormente.

5.1.5.1.3 Grupos experimentales

Los animales se clasificaron en cinco grupos. El primer grupo, denominado grupo control sano, se le dio una dieta normal (Alimento nu3lab 22-5) o estándar, denominado en la dieta anterior como alimento base (porcentaje de proteína de 22%, grasa de 5% y fibra de 6%); dicho alimento también se molió para proveer a todos los animales de las mismas condiciones de alimentación. Los 4 grupos restantes, se alimentaron con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada. De estos cuatro grupos, uno fue el control obeso y los tres restantes fueron los tratamientos con las infusiones al 1%: flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), toronja (*Citrus paradisi*) y albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) (Cuadro 1).

Cuadro 1 .Grupos experimentales.

	Dieta
Control sano	Dieta estándar ¹
Control obeso	Dieta alta en fructosa y grasa saturada ²
<i>H. sabdariffa</i>	Dieta alta en fructosa y grasa saturada ²
<i>C. paradisi</i>	Dieta alta en fructosa y grasa saturada ²
<i>O. sanctum</i> L.	Dieta alta en fructosa y grasa saturada ²

¹Dieta estándar (proteína de 22%, grasa de 5% y fibra de 6%) y ²Dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada (14.13 % proteínas, 45 % carbohidratos y 40% lípidos).

El experimento se dividió en dos etapas: en la primera etapa los animales obesos recibieron la dieta alta en grasa saturada y carbohidratos simples (fructosa) durante 5 meses. En la segunda etapa (tratamiento), se continuó con la dieta alta en

carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, así como la infusión correspondiente a cada grupo. A los animales del grupo control se les administró agua en lugar de infusión. Este tratamiento se aplicó durante cuatro meses, al finalizar el estudio, los animales fueron anestesiados y se tomaron muestras de sangre por punción cardiaca; el suero fue inmediatamente separado y almacenado a 70 °C para su posterior análisis.

5.1.5.1.4 Evaluación de la ganancia de peso

Cada quince días se registró el peso corporal durante todo el estudio. Los resultados se expresaron como ganancia de peso.

5.1.5.1.5 Efecto hipoglucémico

La glucosa se midió en suero utilizando un kit enzimático (Randox Laboratories Ltd. Crumlin, Reino Unido) y la insulina mediante un kit de ELISA (Millipore, EE.UU.). La resistencia a insulina fue calculada con el modelo de homeostasis (HOMA), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{HOMA} = [\text{insulina en ayunas (mU/mL)} \times \text{glucosa en ayunas (mmol/L)} / 22.5]$$

5.1.5.1.6 Efecto hipolipidémico

Se determinó la concentración de triglicéridos en suero, con un kit enzimático (Randox Laboratories Ltd. Crumlin, Reino Unido).

5.1.5.2 Estudio agudo sobre las propiedades hipoglucemiantes e hipolipidémicas

5.1.5.2.1 Animales

Se utilizaron 16 ratas Wistar con un peso promedio de 350 ± 20 g. Estas ratas se mantuvieron en un lugar con periodos de luz y oscuridad de 12 h a lo largo de la fase experimental con acceso *ad libitum* al agua y alimento.

5.1.5.2.2 Prueba de tolerancia al almidón

Después de un ayuno de 12 h, se administraron por vía oral a las ratas Wistar las infusiones de *H. sabdariffa*, *O. sanctum* L. y *C. paradisi* (0,1 mL/kg). El agua destilada o acarbosa (20 mg/kg) se les administró al grupo control negativo y positivo, respectivamente. Cinco minutos más tarde, se administró a cada rata por vía oral una carga de almidón (2 g/kg). Los niveles de glucosa plasmáticos se midieron a los 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min con un sistema Accutrend Plus (Roche Diagnosis, Mannheim, Alemania) a partir de sangre obtenida de la vena de la cola. El área bajo la curva (AUC) se calculó utilizando la función trapezoidal (Allison y col., 1995).

5.1.5.2.3 Prueba de tolerancia a los lípidos

Después de un ayuno de 12 h, se administraron por vía oral a las ratas Wistar las infusiones de *H. sabdariffa*, *O. sanctum* L. y *C. paradisi* (0.1 mL/kg). El agua destilada u orlistat (20 mg/kg) se les administró al grupo control negativo y positivo, respectivamente. Cinco minutos más tarde, una carga de aceite de maíz (5 g/kg) se administró a cada rata por vía oral. Los niveles de triglicéridos plasmáticos se midieron a los 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min en un sistema Accutrend Plus (Roche Diagnosis, Mannheim, Alemania) a partir de sangre obtenida de la vena de la cola. El área bajo la curva (AUC) se calculó utilizando la función trapezoidal (Allison y col., 1995).

5.2 Análisis estadístico

Los resultados se reportaron como la media \pm error estándar (EE). Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un nivel de confianza del 95%. También se realizaron correlaciones de *Sperman*. La comparación entre todos los tratamientos se realizaron con la prueba de Tukey con la ayuda del paquete estadístico JMP 5.0.1.

6. RESULTADOS

6.1 Compuestos polifenólicos

El contenido de los principales grupos de compuestos polifenólicos se presenta en el Cuadro 2, y los resultados muestran que la infusión de *O. sanctum* L. tuvo la mayor cantidad de fenoles y flavonoides totales, seguido por *H. sabdariffa* y *C. paradisi*. Por otro lado, las antocianinas sólo se detectaron en las infusiones de *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa*, siendo esta última infusión la que presentó el mayor contenido de dichos compuestos.

Cuadro 2. Contenido total de compuestos fenólicos en las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa*.

	<i>C. paradisi</i>	<i>O. sanctum</i> L.	<i>H. sabdariffa</i>
Fenoles totales ¹	32.7 ± 0.3b	86.9 ± 3.4a	30.1 ± 0.9b
Flavonoides totales ²	2.3 ± 0.0b	26.7 ± 1.8a	2.6 ± 0.1b
Antocianinas totales ³	DLD	18.9 ± 1.5b	33.8 ± 2.2a

Los valores son expresados como ¹µg GAE/g, ²µg CE/g y ³µg C3GE/g. DLD: debajo del límite de detección (0.05 µg/g). Los datos se presentan como la media ± error estándar (n=3). Letras diferentes en un mismo renglón indican diferencia estadística significativa (p≤0.05) por la prueba de Tukey.

6.2 Evaluaciones *in vitro*

6.2.1 Capacidad antioxidante

En el Cuadro 3 se muestra la actividad antioxidante de las infusiones medidos por tres ensayos diferentes, la infusión de *O. sanctum* L. presentó la mayor actividad contra DPPH, ABTS y radicales de NO, seguido por la infusión de *H. sabdariffa*, mientras que la infusión de *C. paradisi* presentó la actividad antioxidante más débil.

Cuadro 3. Capacidad antioxidante de las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa*,

	<i>C. paradise</i>	<i>O. sanctum</i> L.	<i>H. sabdariffa</i>
DPPH ¹	36.5 ± 1.6a	13.4 ± 2.9c	24.9 ± 1.8b
ABTS ¹	15.3 ± 0.9a	3.5 ± 0.2c	6.4 ± 0.5b
NO ¹	21.5 ± 1.3a	8.3 ± 0.6c	16.9 ± 1.3b

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracil; ABTS: 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico y NO: radicales de óxido nítrico.¹ IC₅₀, µg/g. Los datos se presentan como la media ± error estándar (n=3). Letras diferentes en un mismo renglón indican diferencia estadística significativa (p≤0.05) por la prueba de Tukey.

6.2.2 Inhibición de enzimas

6.2.2.1 Capacidad de inhibición de las enzimas de α-amilasa y α-glucosidasa

Las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron una capacidad inhibitoria similar al control positivo acarbosa (65.16 ± 4.19 y 56.78 ± 3.38 µg/g vs 55.09 ± 3.91 µg/g) en la inhibición de α-amilasa, mientras que la de *C. paradisi* fue de 152.62 ± 6.17 µg/g (Figura 6).

Las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. (Figura 7) presentaron una capacidad inhibitoria ligeramente superior a acarbosa (6.84 ± 0.51 y 6.22 ± 0.38 µg/g vs 3.95 ± 0.21) en la inhibición de α-glucosidasa; nuevamente, la infusión de *C. paradisi* presentó el mayor valor de IC₅₀ (23.18 ± 1.37 µg/g) (Figura 7), por lo tanto esta infusión tiene una menor capacidad de inhibición.

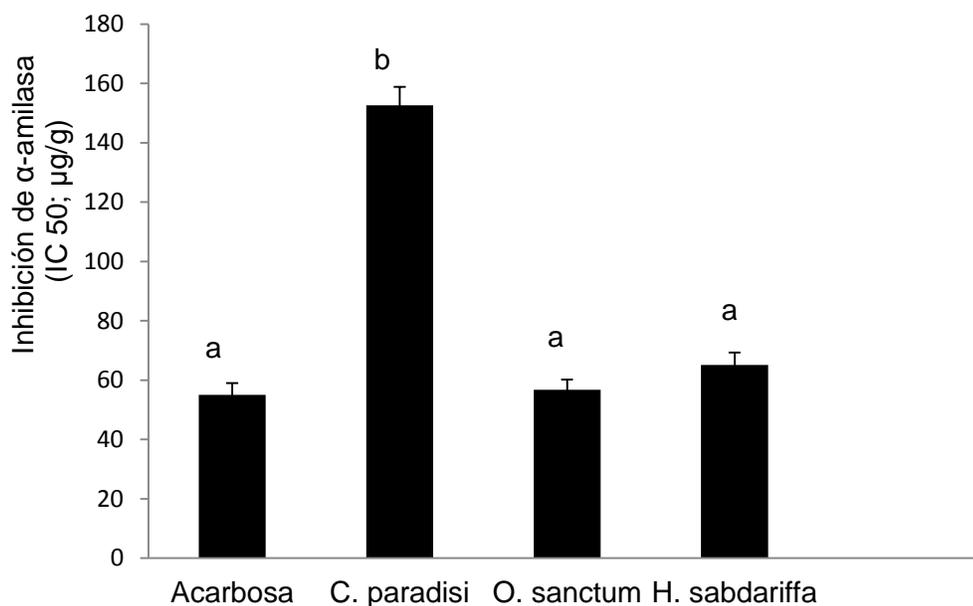


Figura 6. Efecto de las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa* en la capacidad inhibitoria de la enzima α -amilasa. Los datos se presentan como la media \pm error estándar (n=3). Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

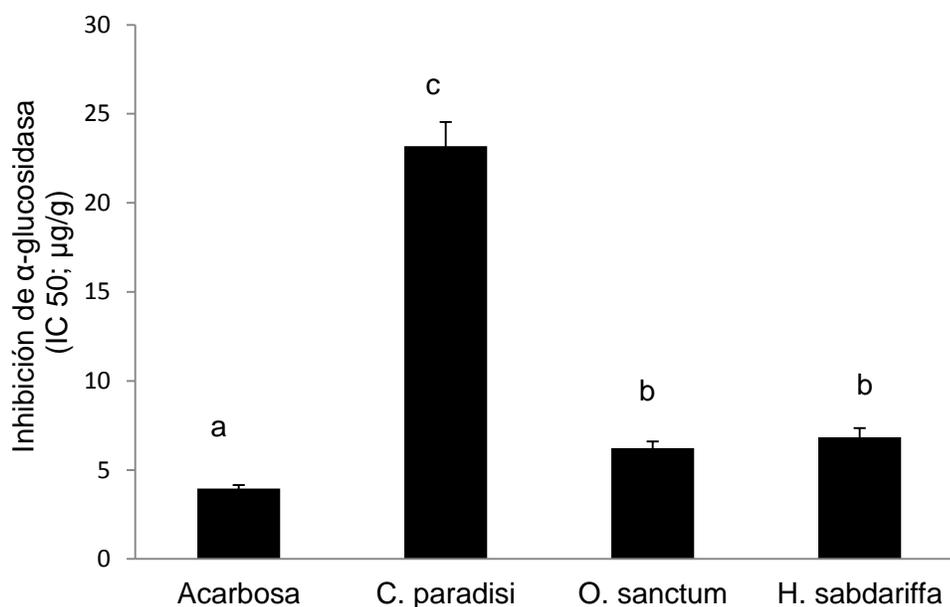


Figura 7. Efecto de las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa* en la capacidad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa. Los datos se presentan como la media \pm error estándar (n=3). Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

6.2.3 Capacidad de inhibición de la enzima lipasa pancreática

Las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. inhibieron significativamente a la enzima lipasa pancreática presentando un valor de IC₅₀ de 9.54 ± 0.65 y 5.64 ± 0.44 $\mu\text{g/g}$, ligeramente más altos que el grupo de orlistat (1.43 ± 0.18 $\mu\text{g/g}$), mientras que *C. paradisi* mostró menor inhibición (IC₅₀ 31.71 ± 2.07 $\mu\text{g/g}$) (Figura 8).

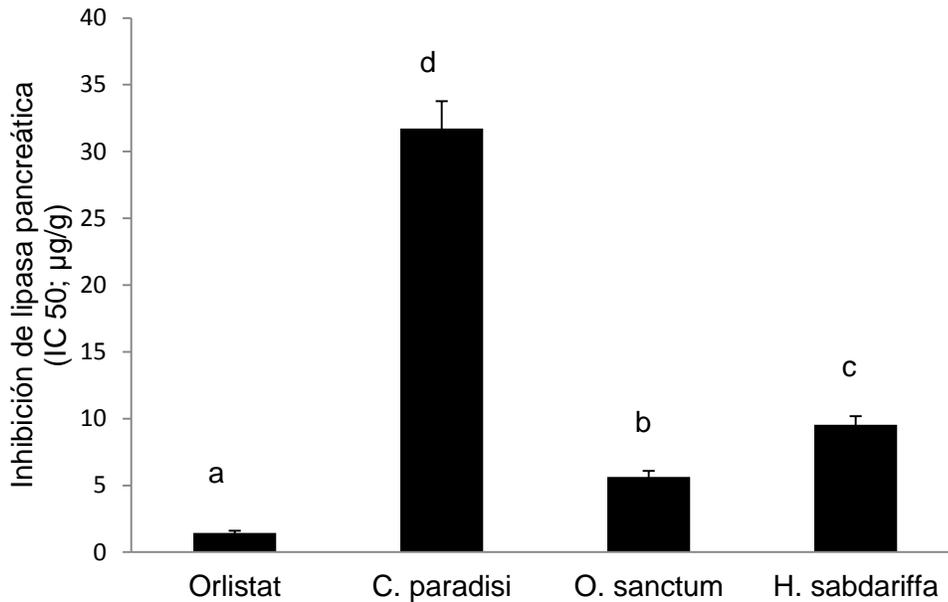


Figura 8. Efecto de las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa* en la capacidad inhibitoria de la enzima lipasa pancreática. Los datos se presentan como la media \pm error estándar (n=3). Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tukey.

6.3 Evaluación *in vivo*

6.3.1 Estudio crónico

6.3.1.1 Evaluación del incremento o disminución de peso

En la Figura 9 se muestran los resultados del estudio crónico de los animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa, después de 5 meses continuaron con dicha dieta y consumieron 4 meses más las infusiones *ad libitum*.

A partir de los 5 meses se presentó una mayor ganancia de peso de los animales obesos comparado con el control (38%) y al final del tratamiento, el grupo control mostró un 33% más de peso que el grupo control sano.

Los animales del grupo tratado con la infusión de *H. sabdariffa* mostraron una disminución de peso corporal en un 11 % con respecto al control obeso, aún cuando este resultado no fue estadísticamente significativo comparado con el control obeso. El consumo de alimento y bebida fue mayor para el grupo control sano comparado con el control obeso; sin embargo, todos los grupos que tomaron infusiones fueron similares al control obeso y al control sano, ya que no hubo diferencia significativa entre ningún grupo de estudio (Cuadro 4).

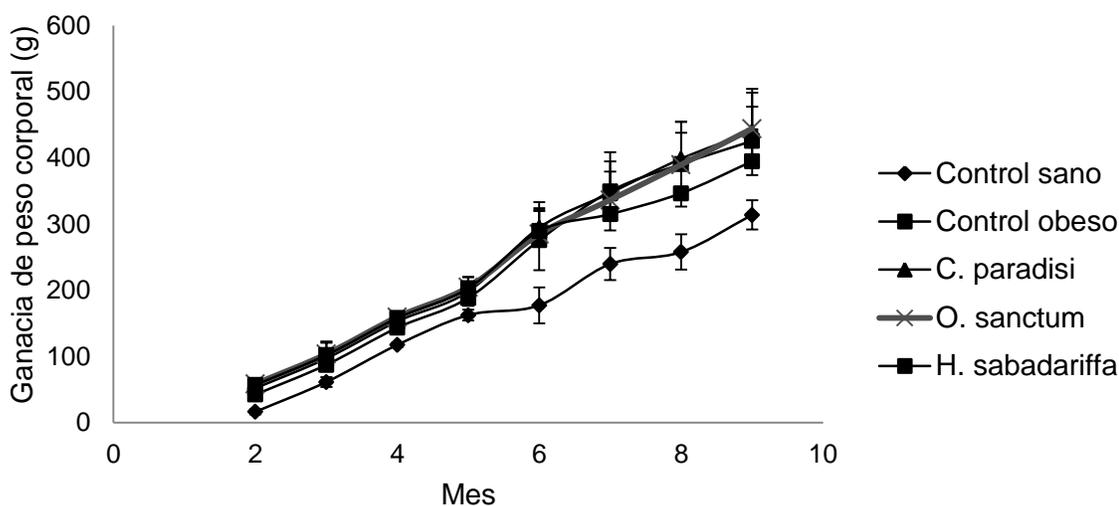


Figura 9. Ganancia de peso corporal de ratas obesa alimentadas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, y tratadas con infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa*.

6.3.1.2 Efecto hipoglucémico

Al final del estudio, el control obeso mostró 1.3, 1.7 y 3.8 veces más niveles de glucosa, insulina y valor de HOMA, respectivamente, que el grupo control sano. Los animales que consumieron las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron valores de glucosa e insulina en suero menores al control obeso, así como sus valores de HOMA. Para el grupo *C. paradisi* sólo fueron

estadísticamente menores los valores de insulina y HOMA; a pesar de que glucosa también disminuyó, este valor no fue significativo (Cuadro 5).

Cuadro 4. Consumo de alimento e infusión de ratas obesas inducidas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, durante cuatro meses.

	Consumo de alimento (g)	Consumo de infusión (mL)
Control sano	30.16 ± 5.7 ^a	41.96 ± 2.4 ^a
Control obeso	23.21 ± 6.1 ^a	36.78 ± 2.7 ^a
<i>C. paradisi</i>	23.58 ± 1.8 ^a	32.14 ± 2.2 ^a
<i>O. sanctum L.</i>	30.47 ± 1.3 ^a	33.67 ± 3.4 ^a
<i>H. sabdariffa</i>	20.76 ± 4.8 ^a	20.20 ± 2.7 ^a

Los datos se presentan como la media ± error estándar (n=7). Letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa (p≤0.05) con la prueba de Tukey.

Cuadro 5. Glucosa e insulina en suero, y valores de HOMA de ratas obesas tratadas con infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum L.* y *H. sabdariffa*.

	Control sano	Control obeso	<i>C. paradisi</i>	<i>O. sanctum L.</i>	<i>H. sabdariffa</i>
Glucosa ¹ (mg/dL)	94.8 ± 4.0 ^b	122.4 ± 1.0 ^a	102.1 ± 2.4 ^{ab}	87.8 ± 5.8 ^b	93.9 ± 5.5 ^b
Insulina ² (μU/mL)	29.9 ± 0.5 ^b	51.9 ± 2.8 ^a	31.3 ± 2.5 ^b	32.4 ± 2.2 ^b	31.3 ± 0.8 ^b
HOMA ³ (Unidades arbitrarias)	4.8 ± 0.6 ^d	18.7 ± 0.6 ^a	9.1 ± 0.5 ^b	6.5 ± 0.5 ^{cd}	6.9 ± 0.3 ^c

¹mg/dL, ²μU/mL y ³Unidades arbitrarias. Los datos se presentan como la media ± el error estándar (n=7). Letras diferentes en un mismo renglón indican diferencia estadística significativa (p≤0.05) por la prueba de Tukey.

6.3.1.3 Efecto hipolipidémico

El grupo control obeso al final del estudio mostró una concentración de triglicéridos en sangre (163 mg/dL), estadísticamente mayor al grupo sano (92 mg/dL). Todos los grupos tratados con infusiones disminuyeron los niveles de triglicéridos en

sangre, *C. paradisi* y *H. sabdariffa* fueron los tratamientos que presentaron niveles similares al control sano (Figura 10).

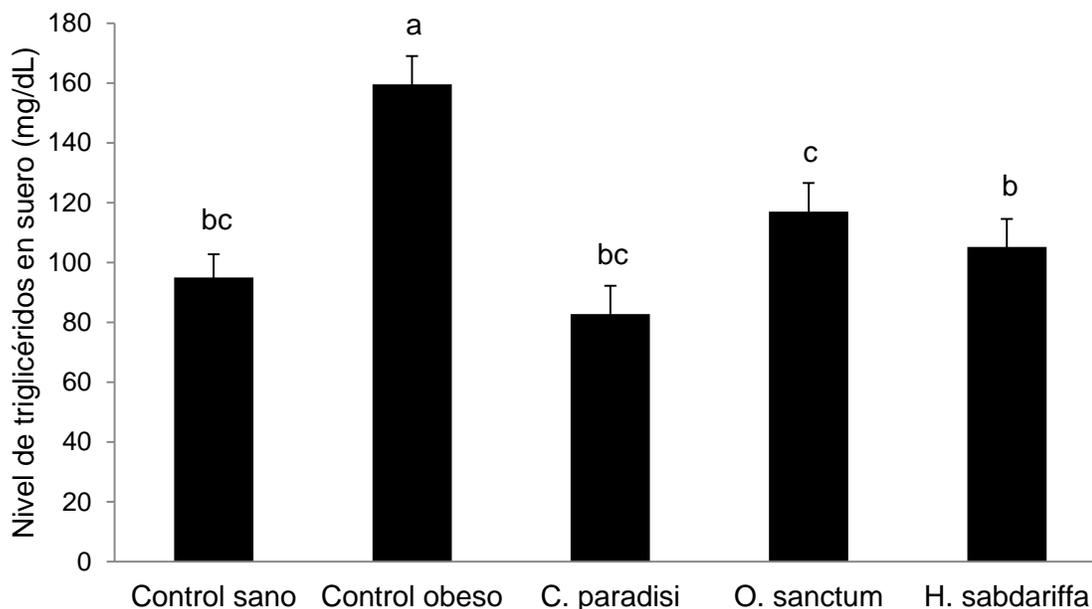


Figura 10. Triglicéridos en suero de ratas obesas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, y tratadas con infusiones. Los datos se expresan como la media \pm el error estándar. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la prueba de Tukey.

6.3.2 Estudio agudo

6.3.2.1 Curva de tolerancia a la glucosa

Los niveles de glucosa basales fueron similares en todos los grupos, y a los 60 min después de la administración de almidón, los animales del grupo control positivo presentaron un aumento de 1.6 veces en los niveles de glucosa en sangre y a los 180 min disminuyeron a 119 mg/dL. Los animales tratados con las infusiones mostraron menores niveles de glucosa desde los 30 min, siendo este efecto más importante para los grupos tratados con las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L., mientras que *C. paradisi* presentó niveles de glucosa similares a los del grupo control negativo. Además los grupos tratados con las infusiones de *H.*

sabdariffa y *O. sanctum* L. presentaron niveles de glucosa similares al grupo de acarbosa a los 30, 60 y 180 min después de la carga de almidón (Figura 11).

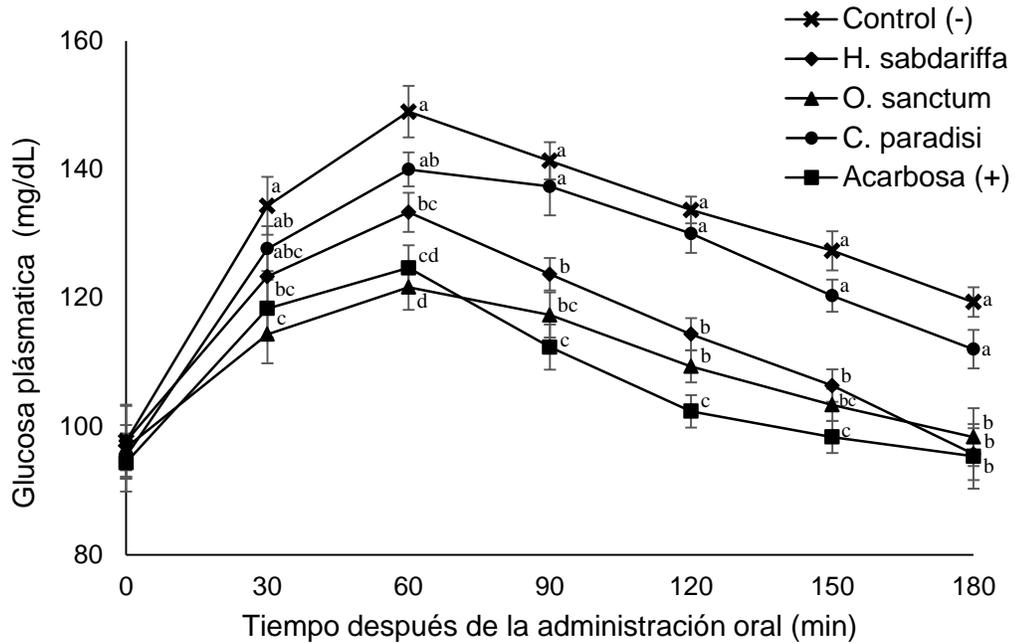


Figura 11. Efecto de las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa* sobre la curva de tolerancia al almidón. Cada punto representa la media \pm desviación estándar (n= 4). a, b, c, d indica la diferencia estadística ($p < 0,05$) con la prueba de Tukey.

El área bajo la curva representa el comportamiento de la digestión del almidón y de la absorción de la glucosa después de una comida. Los animales tratados con las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron valores estadísticamente más bajos que el control negativo; mientras que, los valores del grupo tratado con la infusión de *O. sanctum* L. fueron similares a los de acarbosa y el grupo tratado con la infusión de *C. paradisi* presentó valores similares que el grupo control negativo (Figura 12).

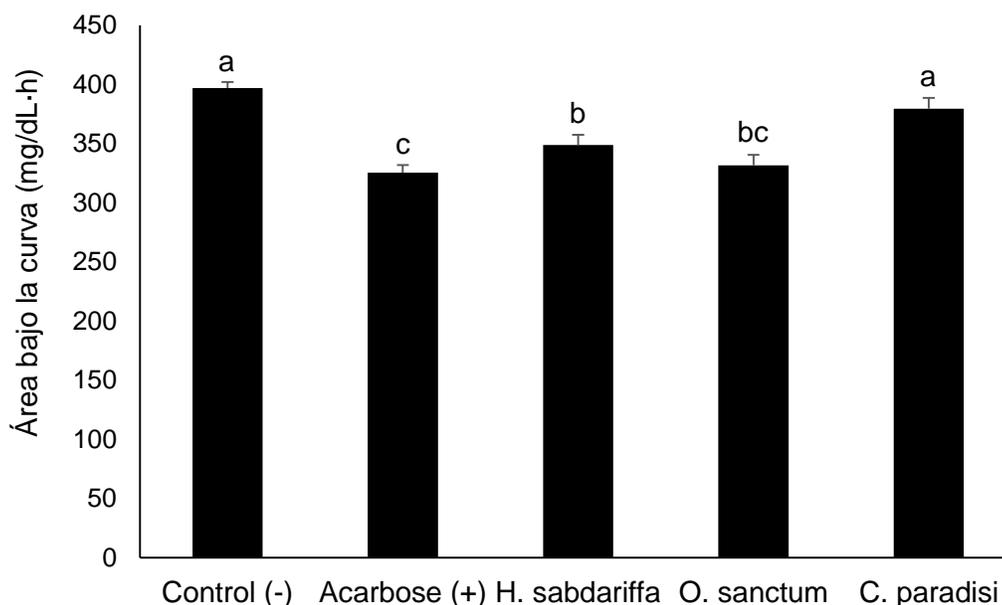


Figura 12. Área bajo la curva de ratas tratadas con almidón e infusiones. Cada punto representa la media \pm desviación estándar (n= 4). Las letras indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con la prueba de Tukey.

6.3.2.2 Curva de tolerancia a los lípidos

Los niveles de triglicéridos basales fueron similares para cada uno de los grupos y, a los 90 min después de la administración de lípidos, el grupo control negativo presentó un aumento de triglicéridos de 2.7 veces y a los 180 min mostró 1.8 veces mayor cantidad de éstos en sangre comparado con su tiempo cero.

En los grupos que consumieron las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. se observó una disminución en la concentración de triglicéridos plasmáticos, pero sus valores son ligeramente mayores a los del grupo de orlistat; mientras que, el grupo tratado con la infusión de *C. paradisi* no presentó efecto antihiperlipidémico. Además, los grupos tratados con las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron valores ligeramente más altos que los niveles de triglicéridos del grupo de orlistat después de 180 min de la carga de lípidos, los cuales eran significativamente más bajos que el control negativo (Figura 13).

Los grupos tratados con las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron valores de AUC bajo; estos valores fueron ligeramente superiores al grupo control positivo orlistat y menores que el grupo control negativo orlistat y menores que el control negativo; mientras que el grupo con *C. paradisi* presentó valores estadísticamente similares a los del grupo control negativo (Figura 14).

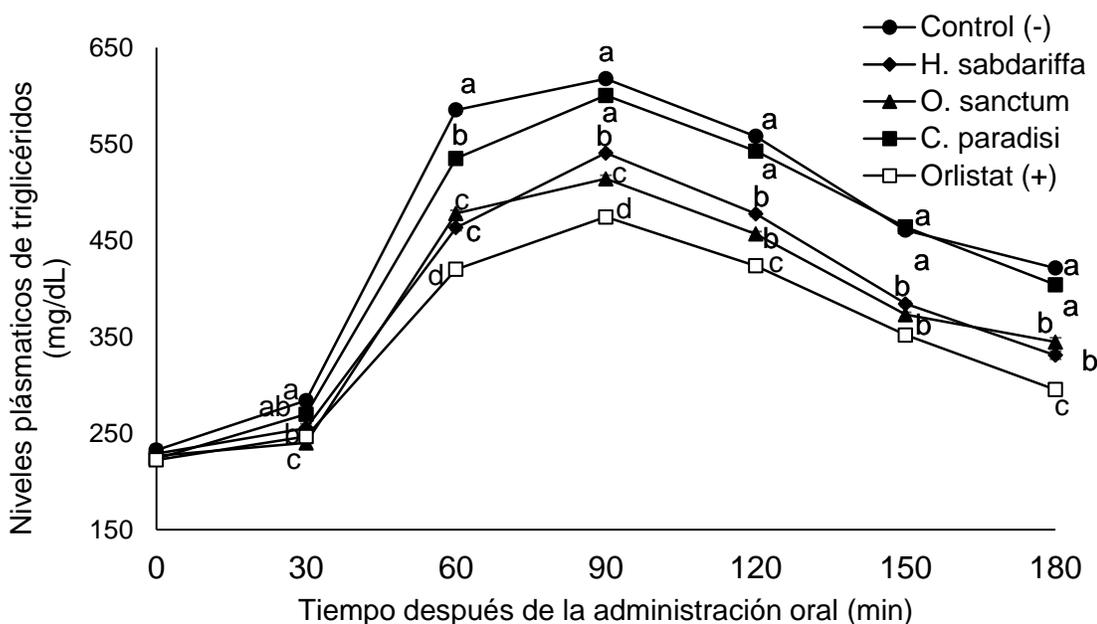


Figura 13. Efecto de las infusiones de *C. paradisi*, *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa* sobre la curva de tolerancia a los triglicéridos. Cada punto representa la media \pm error estándar (n= 4). Las letras indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con la prueba de Tukey.

6.3.3. Coeficientes de correlación de compuestos fenólicos, evaluaciones *in vitro* e *in vivo*

En el Cuadro 6 se presentan las correlaciones de Pearson entre el contenido de compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante (determinada por los métodos de ABTS y DPPH) e inhibición de enzimas digestivas. Las correlaciones más importantes se presentaron entre la concentración de antocianinas y la capacidad antioxidante medida por los ensayos DPPH ($r=0.89$), ABTS ($r=0.91$) y NO ($r=0.95$); también se encontró una correlación significativa entre el contenido de fenoles con

la capacidad antioxidante medida por el método ABTS ($r=0.45$). Respecto a la inhibición de las enzimas, la correlación más importante se presentó para la enzima α -amilasa con flavonoides totales ($r=0.47$). Para la enzima α -glucosidasa las correlaciones más importantes se dieron con los contenidos de fenoles totales ($r=0.27$) y antocianinas totales ($r=0.31$); mientras que, para la lipasa pancreática, las correlaciones fueron de 0.40, 0.31 y 0.36 para el contenido de fenoles, flavonoides y antocianinas totales respectivamente.

En el Cuadro 7 se muestran las correlaciones entre el contenido de los compuestos fenólicos con las curvas de tolerancia al almidón y a los triglicéridos. El efecto más importante para la reducción de ambas curvas se presentó en relación al contenido de antocianinas totales (0.66 y 0.71, respectivamente), seguido del contenido de flavonoides totales (0.41 y 0.36, respectivamente).

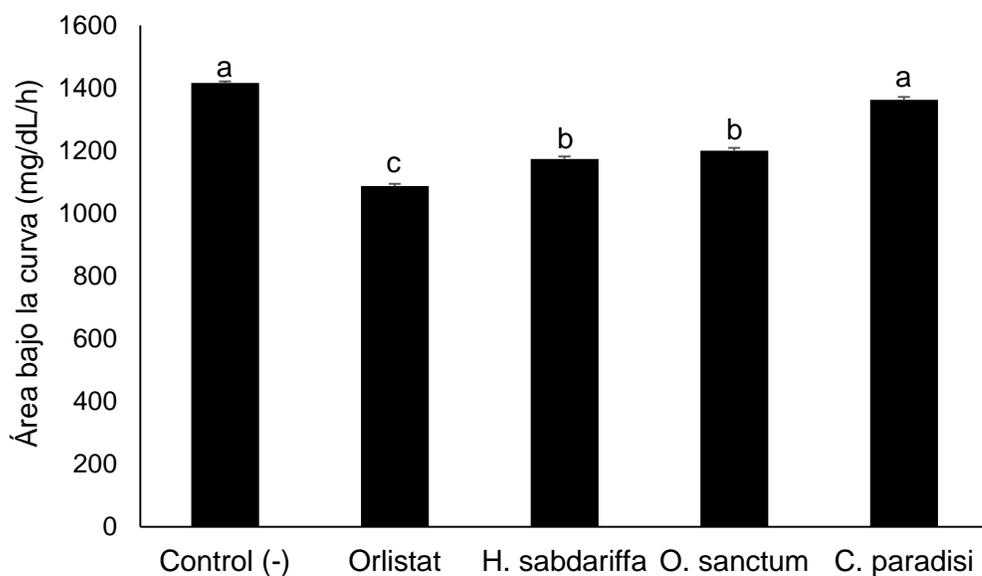


Figura 14. Área bajo la curva de las ratas tratadas con aceite de maíz e infusiones. Cada punto representa la media \pm error estándar ($n = 4$). Las letras indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con la prueba de Tukey.

Cuadro 6. Correlaciones de Pearson de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas.

	Inhibición α -amilasa	Inhibición α -glucosidasa	Inhibición lipasa Pancreática	DPPH	ABTS	NO	Fenoles totales	Flavonoides totales	Antocianinas totales
Inhibición α-amilasa	-	0.62	0.11	0.27	0.19	0.23	0.33	0.47	0.28
Inhibición α-glucosidasa	0.62	-	0.18	0.31	0.23	0.17	0.27	0.19	0.31
Inhibición lipasa pancreática	0.11	0.18	-	0.09	0.14	0.12	0.40	0.31	0.36
DPPH	0.27	0.31	0.09	-	0.49	0.71	0.37	0.33	0.89
ABTS	0.19	0.23	0.14	0.49	-	0.42	0.45	0.41	0.91
NO	0.23	0.17	0.12	0.71	0.42	-	0.33	0.27	0.95
Fenoles totales	0.33	0.27	0.40	0.37	0.45	0.33	-	0.59	0.47
Flavonoides totales	0.47	0.19	0.31	0.33	0.41	0.27	0.59	-	0.28
Antocianinas totales	0.28	0.31	0.36	0.89	0.91	0.95	0.47	0.28	-

Cuadro 7. Correlaciones de Pearson de compuestos fenólicos y curvas de tolerancia al almidón y a los triacilglicéridos.

	AUC almidón	AUC triglicéridos	Fenoles totales	Flavonoides totales	Antocianinas totales
AUC almidón	-	0.08	0.33	0.41	0.66
AUC triglicéridos	0.08	-	0.39	0.36	0.71
Fenoles totales	0.33	0.39	-	-	0.47
Flavonoides totales	0.41	0.36	0.59	-	0.28
Antocianinas totales	0.66	0.71	0.47	0.28	-

7. DISCUSIONES

Los polifenoles son considerados los principales compuestos bioactivos detectados en infusiones herbales y se ha demostrado que presentan diferentes propiedades biológicas (Hernández, 1999). En este estudio, las infusiones de *H. sabdariffa* y *C. paradisi* tuvieron el mayor contenido de compuestos polifenólicos (Cuadro 2). La presencia de compuestos polifenólicos en las bebidas contribuye mayoritariamente a la capacidad antioxidante de la dieta en comparación con el aporte de las frutas y verduras (72.6% vs 17.3%) (Franco y Moure, 2010).

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL), que provocan daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa. El daño celular que producen los ER y los RL, provoca una gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena. Esto induce a que se presenten diversas enfermedades, como diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, cataratas, depresión, diversos tipos de cáncer, entre otros (Ramos y col., 2006). Debido a lo anterior, se recomienda el consumo de bebidas ricas en polifenoles y antioxidantes, bajas en azúcares simples, para aumentar el consumo de compuestos bioactivos con propiedades benéficas (Hervert, 2011). En el Cuadro 3 se muestra la actividad antioxidante de las infusiones estudiadas, la cual se evaluó mediante tres ensayos diferentes, siendo la infusión de *O. sanctum* L. la que presentó la mayor actividad contra los radicales DPPH, ABTS y NO, seguido por la infusión de *H. sabdariffa*.

A pesar de que los radicales ABTS y DPPH no se forman en el organismo, la gran capacidad de eliminación de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. contra estos radicales, sugiere que estas infusiones de hierbas tienen una actividad de transferencia de electrones. Además, la alta capacidad de éstas infusiones contra radicales de NO es de gran importancia fisiológica, ya que una excesiva producción de este compuesto conduce al desarrollo de estrés nitrosativo, debido a la producción de

peroxinitritos (NO^{3-}), que son especies muy reactivas, las cuales pueden inducir la peroxidación de lípidos, la oxidación de proteínas y daños de nitración al ADN, y se relaciona con el desarrollo de complicaciones diabéticas (Pacher y col., 2005).

La máxima capacidad inhibitoria de la infusión *H. sabdariffa* contra DPPH y ABTS (99 y 92%) fue mayor que la reportada para un extracto acuoso de *H. sabdariffa* (~40%) (Mohd y col., 2010.), lo cual puede estar relacionado con una mayor extracción de compuestos bioactivos en infusiones debido a la utilización de altas temperaturas (90°C). La capacidad antioxidante de infusiones a partir de flores de *O. sanctum* L. no se ha informado, y estos resultados sugieren que las flores *O. sanctum* L. pueden disminuir el estrés oxidativo.

En este estudio también se determinó la capacidad de las infusiones para disminuir los niveles de glucosa y triglicéridos postprandiales. Los efectos se compararon con la acarbosa y el orlistat, ya que el uso de acarbosa puede mejorar el control glucémico de los pacientes y orlistat impide la hidrólisis intestinal de los triglicéridos y, por tanto, llega a disminuir la captación de grasas de la dieta en un 30% consiguiendo una pérdida de peso comparable a la que se consigue con una dieta baja en grasas (Levy y col., 2000; Gomis, 2004). Sin embargo, el orlistat comúnmente presenta efectos adversos gastrointestinales; de manera similar, los efectos secundarios de la acarbosa limitan su utilización (Calle y Charro, 2001; Padwal y Majumdar, 2007) por lo tanto, la identificación de alternativas naturales es de gran interés para los investigadores y la creación de nuevos medicamentos.

En la medicina tradicional mexicana, las decocciones e infusiones de *H. sabdariffa* se utilizan para la diabetes y tratamiento de la obesidad, y se ha reportado que uno de los mecanismos de sus propiedades hipoglucemiantes y hipolipidémicos es la inhibición de las enzimas digestivas (Badreldin y col., 2005). Sin embargo, el potencial antidiabético y antihipertrigliceridémicos postprandial de las infusiones de *O. sanctum* L. y *C. paradisi* siguen siendo desconocido.

La capacidad de los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas, y para interferir consecuentemente en mecanismos de señalización y en distintos

procesos celulares, puede deberse, al menos en parte, a las características fisicoquímicas de estos compuestos, que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción (Quiñones y col, 2012). Los polifenoles presentan una actividad inhibitoria sobre varias enzimas debido a la interacción de sus grupos hidroxilo con los grupos polares del sitio alostérico de estas enzimas (Adisakwattana y col., 2012).

En este estudio se evaluó la capacidad de las infusiones para inhibir las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática. La evaluación de las dos primeras enzimas se efectuó con el fin de elucidar el mecanismo de inhibición de la digestión y/o absorción de carbohidratos, ya que el efecto antihiper glucémico postprandial está relacionado con la regulación de la absorción de glucosa desde la luz intestinal. El almidón de la dieta se hidroliza primero en oligosacáridos por α -amilasa pancreática, que se hidroliza al final a glucosa por α -glucosidasa intestinal para su absorción (McDougall y col., 2005).

Las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron una capacidad inhibitoria contra α -amilasa similar a la acarbosa (Figura 6), y una capacidad inhibitoria un poco mayor para α -glucosidasa (Figura 7), lo que sugiere que la inhibición de la digestión de carbohidratos está parcialmente relacionada con su efecto antidiabético. Esto fue confirmado *in vivo* en una curva de tolerancia al almidón en donde se demostró que las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron menores valores de glucosa comparado con el grupo control negativo (Figura 11 y 12). En base a lo anterior, el efecto antihiper glucémico de las infusiones podría estar relacionado con la regulación del transporte de glucosa a través del lumen intestinal, inhibiendo la digestión y/o absorción de carbohidratos.

En el estudio crónico también se observó una disminución de glucosa y dicho efecto estuvo asociado con una mejora de la resistencia a insulina (Cuadro 5), por lo tanto, además del efecto gastrointestinal, las infusiones podrían mejorar algunas de las vías relacionadas con la insulina. Se ha reportado que un extracto polifenólico de *H. sabdariffa* mejoró los niveles de glucosa e insulina en un modelo

de diabetes tipo 2 (Peng y col., 2011). Por otro lado, un extracto acuoso de *O. sanctum* L. mejoró la resistencia a insulina en un modelo de animales alimentados con una dieta alta en fructosa (Reddy y col., 2008). Y respecto a *C. paradisi* un extracto de esta fruta mejoró el valor de HOMA en animales resistentes, dicho efecto se asoció a una disminución de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa y disminuyó la entrada de glucosa mediada por el transportador de glucosa intestinal SGLT1 (De la Garza y col., 2013).

Otro de los efectos biológicos evaluados fue la propiedad hipolipidémica de las infusiones. Primeramente se determinó el efecto de estas bebidas sobre la actividad de la enzima lipasa pancreática, la cual es una enzima clave de la hidrólisis de triacilglicéridos en mono y diacilglicéridos, y ácidos grasos, por lo que su inhibición puede reducir triglicéridos postprandiales (Birari y Bhutani, 2007). Las infusiones de *O. sanctum* L. y *H. sabdariffa* presentaron una alta capacidad inhibidora de la lipasa pancreática (Figura 8), la cual fue moderadamente mayor que orlistat, lo que sugiere que el efecto antihiperlipidémico observado puede ser parcialmente relacionado con la inhibición de esta enzima.

Por otro lado, el efecto antihiperlipidémico de las infusiones se evaluó usando un lípido (aceite de maíz) administrado por vía oral. Las ratas tratadas con *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. mostraron una disminución significativa del aumento de la concentración de triglicéridos plasmáticos, presentando valores ligeramente más altos que el grupo de orlistat, mientras que el grupo *C. paradisi* no presentó un efecto antihiperlipidémico (Figura 13). Las infusiones de *H. sabdariffa* y *O. sanctum* L. presentaron valores del área bajo la curva ligeramente superiores a orlistat, lo que sugiere que estas infusiones presentan un efecto hipotrigliceridémico, mientras que el grupo *C. paradisi* presentó estadísticamente valores similares a los del grupo control negativo (Figura 14).

En el estudio crónico se observó una disminución de los niveles de triglicéridos en sangre en los grupos tratados con todas las infusiones, por lo tanto, además de la inhibición de la lipasa, existe un mecanismo adicional que permite mejorar los

niveles de estos lípidos, principalmente para el grupo tratado con *C. paradisi* (Figura 10).

Un extracto acuoso de *H. Sabdariffa* disminuyó la síntesis de triacilglicérido en hígado de ratones obesos alimentados con una dieta alta en grasa, presentándose una regulación negativa del factor de transcripción SREBP-1, del cual depende la síntesis de ácidos grasos (Villalpando-Arteaga y col., 2013). Resultados similares fueron reportados para un extracto de *O. sanctum* L. en el cual se observó una disminución de la concentración de triacilglicéridos en hígado (Rai y col., 1997). Respecto a toronja, sólo existe información del efecto hipolipidémico del consumo de jugo, pero no de infusiones y dicha actividad está relacionada con una menor concentración de triacilglicéridos en hígado, esto podría a su vez mejorar la concentración de estos lípidos en sangre (Deyhim y col., 2006).

8. CONCLUSIONES

Las infusiones de *H. sabdariffa* y *C. paradisi* mostraron el mayor contenido de compuestos fenólicos, principalmente antocianinas, las cuales influyen de manera importante para la capacidad antioxidante.

Estas mismas infusiones disminuyeron la actividad de las enzimas digestivas α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa pancreática, lo cual podría estar relacionado con el mecanismo de acción hipoglucemiante e hipolipidémico.

La infusión *C. paradisi*, disminuyó la resistencia a insulina y los niveles de triacilglicéridos en ratas obesas y el mecanismo es independiente al de la inhibición de enzimas digestivas.

El consumo de infusiones en ratas obesas inducidas con una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa) y grasa saturada, disminuyó parámetros relacionados con las complicaciones originadas por la obesidad. Por lo tanto el consumo de las infusiones en estudio se pueden utilizar como una alternativa para el tratamiento de obesidad.

9. REFERENCIAS

- Acosta E.** Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina. *Acta bioquím clín latinoam* **2012**;46:183-194.
- Adisakwattana S,** Ruengsamran T, Kampa P, Sompong W. In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *BMC complementary and alternative medicine* **2012**;12: 110-122.
- Allison DB,** Paultre F, Maggio C, Mezzitis N, Pi-Sunyer FX. The use of areas under curves in diabetes research. *Diabetes care* **1995**;18:245-250.
- Apostolidis E,** Kwon YI, Shetty K. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative food science & emerging technologies* **2007**;8:46-54.
- Badreldin A,** Naser W, Gerald B. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa L.*: a review. *Phytotherapy research* **2005**;19:369-375.
- Barrera A,** Rodríguez A, Molina MA. Escenario actual de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* **2013**;51:292-299.
- Barquera S,** Campos I, Hernández L, Rivera J. Obesidad en adultos: los retos de la cuesta abajo. Instituto Nacional de Salud Publica [serie en internet] 2012 [consultado 2013 enero 13]; [aprox. 4 pp] Disponible en <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/ObesidadAdultos.pdf>
- Berkarda H,** Koyuncu G, Soybir F. Inhibitory effect of hesperidin on tumor initiation and promotion in mouse skin. *Research in Experimental Medicine* **1998**;93–99.
- Birari RB,** Bhutani KK. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov Today* **2007**;12:879-889.
- Blancas G,** Almanza JC, López RI, Alarcón FJ, García R, Cruz M. La obesidad como proceso inflamatorio. *Bol Med Hosp Infant Mex* **2010**;67:88-97.
- Brzowski T,** Konturek PC, Drozdowicz D, Konturek SJ, Zayachivska O, Pajdo R, Kwiecien S, Pawlik WW, Hahn EG. Grapefruit-seed extract attenuates ethanol- and

stress-induced gastric lesions via activation of prostaglandin, nitric oxide and sensory nerve pathways. *World J Gastroenterol* **2005**;11:6450–6458.

Calle AL, Charro AL. Acarbose y diabetes mellitus. Implicaciones prácticas. *An Med Interna* **2001**;18:231-233.

Carmona R, López OD, González ML, Fernández EG, Barzaga P. Optimización de un proceso de obtención de extracto acuoso de *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada). *Rev Cubana Plant Med* **2009**;14:14-22.

COFEMER. El problema de la obesidad en México: diagnóstico y acciones regulatorias para enfrentarlo. México: Senty 2 Multiservicios en comunicación, **2012**.

Daccarett NJ, Núñez GM, Salinas AM, Santos M, Decanini H. Obesidad como factor de riesgo para trastornos metabólicos en adolescentes mexicanos. *Rev salud pública* **2007**;9:180-193.

De la Garza AL, Etxeberria U, Lostao MP, San Román B, Barrenetxe J, Martínez JA, Milagro GI. Helichrysum and grapefruit extracts inhibit carbohydrate digestion and absorption, improving postprandial glucose levels and hyperinsulinemia in rats. *J Agric Food Chem* **2013**;61:12012-12019.

Del Río JA, Ortuño A. *Citrus paradisi* Macf. (Grapefruit): in vitro culture and the bioproduction of sesquiterpenes nootkatone, valencene and other secondary metabolites. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* **1994**;28:123–138.

Deyhim F, López E, González J, García M, Patil BS. Citrus juice modulates antioxidant enzymes and lipid profiles in orchidectomized rats. *J Med Food* **2006**;9:422-426.

Díaz L, Pérez JL, Miranda R, Rodríguez G. Actividad antidepresiva y anticonvulsivante del extracto fluido del *Ocimum tenuiflorum* L. (Albahaca morada). *Rev Cubana Plant Med* **1996**;1:8-12.

Emim JAS, Oliveira AB, Lapa JA. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a Citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin, and claussequinone, in rats and mice. *Journal of Pharmacology* **1994**;46:118–122.

- Farina** HO. Dislipidemias. Bases para el diagnóstico y tratamiento racional. Medicamentos y Salud **2001**;4:36-45.
- Francis** AR, Shetty TK, Bhattacharya RK. Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of N-methyl-N-nitrosoguanidine. Carcinogenesis **1989**;10:1953–1955.
- Franco** D, Moure A. Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Santiago de Compostela: Gráficas Garabal, S.L., **2010**:26.
- Fujiki** H, Horiuchi T, Yamashita K, Hakii H, Suganuma M, Nishino H. Inhibition of tumor promotion by flavonoids. Progress in Clinical and Biological Research **1986**;213:429–440.
- Fujioka** K, Greenway F, Sheard J, Ying Y. The effects of grapefruit on weight and insulin resistance: relationship to the metabolic syndrome. Journal of Medicinal Food **2006**;9:49-54.
- Gabor** MV. Cody, E. Middleton, J.B. Harborne, A. Beretz The bioflavonoids: new results and perspectives of pharmacological research into benzo-pyrone derivatives. Plant flavonoids in biology and medicine II: biochemical, cellular and medicinal properties. Alan R Liss Inc, **1988**: 1–15.
- Giusti** MM, Wrolstad RE. Current protocols in food analytical chemistry New York: In R. E. Wrolstad & S. J. Shwartz, **2001**: F1.2.1-F1.2.13.
- Guardiola** S, Mach N. Therapeutic potencial of *Hibiscus sabdarifa*: a review of the scientific evidence. Endocrinol Nutr **2013**;61:274-295.
- Gupta** V, Kohli K, Ghaiye P, Bansal P, Lather A. Pharmacological Potentials of *Citrus paradisi* – an overview. International Journal of Phytotherapy Research **2011**;1:8-17.
- Gomis** R. Tratamiento farmacológico de la obesidad. Red Med Univ Navarra **2004**;48:63-65.
- Haze** S, Sakai K, Gozu Y, Moriyama M. Grapefruit oil attenuates adipogenesis in cultured subcutaneous adipocytes. Planta Med **2010**;10:950-955.
- Hernández** M, Prieto EA. Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. Rev Cubana Invest Biomed **1999**;18:12-4.

Hervert D. Contribución de las bebidas a la ingesta dietética de polifenoles y capacidad antioxidante en mujeres con obesidad de zonas rurales de México. *Reduca* **2011**;3:1-2.

Hurtado CA, Menses JA, Resendiz JA. Tés e infusiones. Universidad Autónoma de México [serie en internet] 2012 [consultado 2014 julio 20]; [aprox 15 pp] Disponible en <https://investigacion-2257-2012-2.wikispaces.com/file/view/tes.pdf>

Jayasinghe C, Gotoh N, Aoki T, Wada S. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum L.*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **2003**;51:4442-4449.

King H, Rewers M. Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. *Who and hoc diabetes reporting group diabetes care* **1993**; 16:157-177.

Liu Y, Hu M. Absorption and metabolism of flavonoids in the caco-2 cell culture model and a perused rat intestinal model. *Drug metabolism and disposition* **2002**;30: 370-377.

León J. Botánica de los cultivos tropicales. 3a. edición. Costa Rica: IICA, **2000**:52.

Levy I, Piñol C, Guardiola E. La utilización de la acarbosa en atención primaria: evaluación de la tolerancia y seguridad a largo plazo en 2. 799 pacientes diabéticos tipo 2. *Av Diabetol* **2000**;6:135-139.

Luckie A, Cortés F, Ibarra S. Obesidad: trascendencia y repercusión médico-social. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas* **2009**;4:191-201.

McDougall GJ, Kulkarni NN, Stewart D. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food chemistry* **2009**;115:193-199.

Mohd N, Hern FS, Ismail A, Yee CL. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffaL.*) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry* **2010**;122:1055-1060.

Montes M, Wilkomirsky T, Valenzuela L. Plantas medicinales. Chile: Ediciones Universidad de Concepción, **1992**:207.

Morales MR, Simon JE. New basil selections with compact inflorescences for the ornamental market. *Progress in new crops. ASHS Alexandria* **1996**; 543-546.

Ortuño A, García D, Fuster MD, Pérez ML, Sabater F, Porras I. Flavanone and Nootkatone levels in different varieties of grapefruits and pummel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1995**;43:1–5.

Owira PM, Ojewole JA. Grapefruit juice improves glycemic control but exacerbates metformin-induced lactic acidosis in non-diabetic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* **2009**;31:563-70.

Pacher P, Obrosova IG, Mabley JG, Szabó C. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutical strategies. *Current medicinal chemistry* **2005**;12:267-279.

Padwal RS, Majumdar SR. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *The lancet* **2007**;369:71-77.

Parreño JM, Gutiérrez E. Colesterol y triglicéridos y su relación con el índice de masa corporal en pacientes adultos en Lima Metropolitana. *Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener* **2010**;1:59-74.

Pérez JL, Miranda R, Rodríguez G. Actividad antidepresiva y anticonvulsiónante del extracto fluido del *Ocimum tenuiflorum* L. (Albahaca morada). *Rev Cubana Plant Med* **1996**;1:8-12.

Pérez BC, Aragón A, Bautista N, Tapia AM, López F. Entomofauna asociada al cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en el municipio de Chiautla de Tapia, Puebla. *Acta Zool Mex* **2009**;25:239-247.

Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp* **2012**;27:76-89.

Rai V, Iyer U, Mani UV. Effect of Tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf powder supplementation on blood sugar levels, serum lipids and tissue lipids in diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr* **1997**;50:9-16.

Ramos ML, Batista CM, Gómez BC, Zamora AL. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Mediographic* **2006**;8:7-15.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* **1999**;26:1231-1237.

Reddy SS, Karuna R, Baskar R, Saralakumari D. Prevention of insulin resistance by ingesting aqueous extract of *Ocimum sanctum* to fructose-fed rats. *Horm Metab Res* **2008**;40:49-49.

Rivera JA, Muñoz O, Rosas M, Aguilar CA, Popkin MP, Willett WC. Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. *Salud Pública de México* **2008**;50:172-194.

Romero E, Campollo O, Celis de la Rosa A, Vásquez E, Castro J, Cruz R. Factores de riesgo de dislipidemia en niños y adolescentes con obesidad. *Salud Pública de México* **2007**;49:103-108.

Rosas M, Attie F. Enfermedad Cardiovascular. Primera causa de muerte en adultos de México y el mundo. *Arch Cardiol Méx* **2007**;77:91-93.

Rodríguez LE. La obesidad y sus consecuencias clinicometabólicas. *Rev Cubana Endocrinol* [serie en internet] 2004 [consultado 2014 julio 28]; [aprox. 10 pp] Disponible en http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol15_3_04/end08304.htm

Sáyago SG, Goñi I. *Hibiscus sabdariffa* L.: fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* **2010**;60:79-84.

Tada H, Murakami Y, Omoto T, Shimomura K, Ishimura K. Rosmarinic acid and related phenolics in hairy root culture of *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry* **1996**;42:431-434.

Villalpando EV, Mendieta CE, Esquivel SH, Canales AA, Gálvez FJ, Mateos JC, Rodríguez JA, Márquez AL. *Hibiscus sabdariffa* L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis through down-regulation of PPAR- γ and SREBP-1c in diet-induced obese mice. *Food Funct* **2013**;4:618-626.

World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a who consultation. Geneva: WHO, **1999**.