



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

POSGRADO EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR

**“MECANISMOS MOLECULARES DEL EFECTO
ANTIDIABÉTICO DE PLANTAS USADAS EN LA
MEDICINA TRADICIONAL”**

Tesis que presenta

Rocío Zapata Bustos

Para obtener el grado de

Doctora en Ciencias en Biología Molecular

Director

Dr. Luis A. Salazar Olivo

San Luis Potosí, S.L.P.

Enero de 2014



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "**Mecanismos moleculares del efecto antidiabético de plantas usadas en la medicina tradicional**" presentada para obtener el Grado de Doctora en Ciencias en Biología Molecular fue elaborada por **Rocio Zapata Bustos** y aprobada el **13 de Enero de 2014** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Biología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dr. Luis Antonio Salazar Olivo
Director de la Tesis

Dr. Ángel Gabriel Alpuche Solís
Miembro del Comité Tutorial

Dra. Rachel Mata Essayag
Miembro del Comité Tutorial

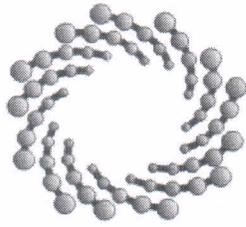
Dra. Mónica Raquel Calera Medina
Miembro del Comité Tutorial



Créditos institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Biotecnología Médica y Pecuaria de la División de Biología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Luis Antonio Salazar Olivo, y fue financiada parcialmente con fondos aportados por CONACYT (Donativo SALUD-2009-01-114435).

Durante la realización del trabajo la autora recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (211445) y un apoyo especial del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



IPICYT

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 061 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Doctorado en Ciencias en Biología Molecular está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 27 días del mes de enero del año 2014, se reunió a las 12:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dra. Rachel Mata Essayag	Presidente	UNAM
Dr. Ángel Gabriel Alpuche Solís	Secretario	IPICYT
Dr. Luis Antonio Salazar Olivo	Sinodal	IPICYT
Dra. Mónica Raquel Calera Medina	Sinodal externo	UASLP

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR

sustentó la C.

Rocio Zapata Bustos

sobre la Tesis intitulada:

Mecanismos moleculares del efecto antidiabético de plantas usadas en la medicina tradicional

que se desarrolló bajo la dirección de

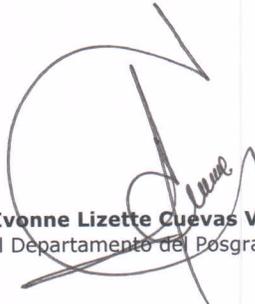
Dr. Luis Antonio Salazar Olivo

El Jurado, después de deliberar, determinó

APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 13:45 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 27 días del mes de enero de 2014.


Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado


Dr. Marcial Bonilla Marín
Secretario Académico



*A mis padres, por todo su sacrificio, trabajo, perseverancia y humildad,
el mejor ejemplo que tengo en la vida.*

Agradecimientos

A mis padres, por la educación y el ejemplo que me dieron para hacer de mí la persona que hoy soy.

A Abraham por su apoyo incondicional y siempre creer en mí.

A Sofía, por ser una luz de alegría que me motiva todos los días.

A Alejandra y Humberto por todo su apoyo.

Al Dr. Luis Salazar Olivo por la oportunidad de trabajar con él, por todas sus enseñanzas y asesoramiento.

A mis sinodales, el Dr. Ángel Alpuche Solís, la Dra. Mónica Raquel Calera Medina y la Dra. Rachel Mata Essayag por sus comentarios durante la realización de este trabajo.

A la Dra. Angélica Montoya Contreras, a mis compañeros de grupo del Laboratorio 3 y a la Sra. Gloria López.

Al Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios (IPICYT) por su asistencia técnica en los análisis de FTIR y a la I.Q. María del Carmen Rocha Medina (LANBAMA, IPICYT) por su asistencia técnica en los análisis de HPLC.

Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	ii
Créditos institucionales	iii
Acta de Examen	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Contenido	vii
Anexos	ix
Artículos publicados	ix
Manuscritos enviados a publicación	x
Manuscritos en preparación	x
Resumen	xi
Abstract	xii
I. Introducción	1
1.1 Patofisiología y epidemiología de la diabetes mellitus	1
1.2 Tratamientos actuales de la DM-2 y sus desventajas	4
1.3 Vía de la insulina como blanco terapéutico	7
1.4 La herbolaria como fuente de nuevos compuestos para el tratamiento de DM-2	10

1.4.1	<i>Teucrium cubense</i>	12
1.4.2	<i>Tecoma stans</i>	12
1.4.3	<i>Magnolia dealbata</i> , honokiol y magnolol	13
1.4.4	<i>Justicia spicigera</i>	14
1.4.5	<i>Ibervillea sonora</i>	15
1.4.6	<i>Parkinsonia aculeata</i>	16
1.4.7	Isoorientina y Vitexina	17
II.	Discusión	19
III.	Conclusiones	26
IV.	Perspectivas	28
V.	Referencias	29

Anexos

Artículos publicados

Alonso-Castro, A.J., **Zapata-Bustos, R.**, Romo-Yañez, J., Camarillo-Ledesma, P., Gómez-Sánchez, M., Salazar-Olivo, L.A., 2010. The antidiabetic plants *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth (Bignoniaceae) and *Teucrium cubense* Jacq (Lamiaceae) induce the incorporation of glucose in insulin-sensitive and insulin-resistant murine and human adipocytes. *Journal of Ethnopharmacology* 127, 1–6.

Alonso-Castro, A.J., **Zapata-Bustos, R.**, Domínguez, F., García-Carrancá, A., Salazar-Olivo, L.A., 2011. *Magnolia dealbata* Zucc and its active principles honokiol and magnolol stimulate glucose uptake in murine and human adipocytes using the insulin-signaling pathway. *Phytomedicine* 18, 926–933.

Alonso-Castro, A.J., **Zapata-Bustos, R.**, Gómez-Espinoza, G., Salazar-Olivo, L.A., 2012. Isoorientin reverts TNF- α -induced insulin resistance in adipocytes activating the insulin signaling pathway. *Endocrinology* 153, 5222–5230.

Ortiz-Andrade, R., Cabañas-Wuan, A., Arana-Argáez, V.E., Alonso-Castro, A.J., **Zapata-Bustos, R.**, Salazar-Olivo, L.A., Domínguez, F., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., García-Carrancá, A., 2012. Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schldl (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 143, 455–462.

Manuscritos enviados a publicación

Zapata-Bustos, R., Alonso-Castro, A.J., Gómez-Sánchez, M., Salazar-Olivo, L.A.

2013. *Ibervillea sonora* (Cucurbitaceae) induces glucose uptake in human adipocytes by activating a PI3K-independent pathway. Submitted to the Journal of Ethnopharmacology.

Manuscritos en preparación

Zapata-Bustos, R., Alonso-Castro, A.J., Salazar-Olivo, L.A. Aqueous extracts of

leaves and flowers of *Parkinsonia aculeata* induce the glucose uptake in murine and human insulin-sensitive and insulin-resistant adipocytes.

Zapata-Bustos, R., Salazar-Olivo, L.A. Evaluation of antidiabetic properties of

Wereke (*Ibervillea spp*; Cucurbitaceae) commercial formulations.

Resumen

Mecanismos moleculares del efecto antidiabético de plantas usadas en la medicina tradicional.

Tecoma stans (L) Juss. Ex Kunth (Bignoniaceae), *Teucrium cubense* Jacq (Lamiaceae), *Magnolia dealbata* Zucc (Magnoliaceae), *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae), *Ibervillea sonora* (S. Watson) Greene (Cucurbitaceae) y *Parkinsonia aculeata* L. (Fabaceae) son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Sin embargo, los mecanismos por los que ejercen sus efectos antidiabéticos aún se desconocen. En este trabajo mostramos que extractos acuosos de *T. stans*, *T. cubense*, *I. sonora* y *P. aculeata*, así como extractos orgánicos de *M. dealbata* y *J. spicigera*, inducen la incorporación de glucosa en adipocitos múridos y humanos sensibles y resistentes a insulina. Asimismo, mostramos que compuestos como los lignanos honokiol y magnolol, y las c-glicosilflavonas isoorientina y vitexina, presentes en plantas reputadas como antidiabéticas, inducen la incorporación de glucosa en células adiposas normales y tipo-diabéticas. Los extractos y compuestos ensayados indujeron la captación de glucosa en adipocitos sensibles a la insulina empleando total o parcialmente la vía canónica de señalización de esta hormona. Nuestros resultados describen por primera vez un mecanismo molecular que explica las propiedades antidiabéticas de las plantas y compuestos estudiados. Palabras clave: 3T3-F442A, adipocitos humanos, vía de la insulina, 2NBDG

Abstract

Antidiabetic molecular mechanisms of plants used in the traditional medicine.

Tecoma stans (L) Juss. Ex Kunth (Bignoniaceae), *Teucrium cubense* Jacq (Lamiaceae), *Magnolia dealbata* Zucc (Magnoliaceae), *Justicia spicigera* Schltidl (Acanthaceae), *Ibervillea sonora* (S. Watson) Greene (Cucurbitaceae) and *Parkinsonia aculeata* L. (Fabaceae) are widely used in the traditional medicine for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Although the antidiabetic properties of some of these plants have been experimentally validated, the mechanisms mediating their antidiabetic effects remain unknown. In this work we show that aqueous extracts of *T. stans*, *T. cubense*, *I. sonora* and *P. aculeata* and organic extracts of *M. dealbata* and *J. spicigera* induce the glucose uptake on insulin-sensitive and insulin-resistant murine and human adipocytes. Furthermore, we show that compounds such as the lignans honokiol and magnolol and c-glycosylflavones isoorientin and vitexin present in plants reputed as antidiabetic, induce the glucose uptake in normal and diabetic-like adipose cells. The assayed extracts and compounds induced the glucose uptake on insulin-sensitive adipocytes totally or partially using the canonical insulin signaling pathway. Our results describe for the first time a molecular mechanism that explain the antidiabetic properties of the studied plants and compounds.

Keywords: 3T3-F442A, human adipocytes, insulin pathway, 2NBDG

I. Introducción

1.1 Patofisiología y epidemiología de la diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica caracterizada por altos niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia), dislipidemia y otros trastornos metabólicos. Se presenta en tres modalidades principales conocidas como DM tipo 1 (DM-1), DM tipo 2 (DM-2) y DM gestacional (DMG). La DM-1 es causada por la baja o nula producción de insulina y la DM-2 está asociada a la obesidad junto con deficiencias en la secreción de insulina y resistencia a ella (Rodger, 1991). La DMG se desarrolla en algunos casos de embarazo y generalmente desaparece después de éste. La DM-2 es el tipo más común, representa entre el 85-90% de los casos de DM en países desarrollados y porcentajes aún mayores en países en desarrollo.

La DM-2 es el resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales, como regímenes alimenticios hipercalóricos y de bajo valor nutricional, y el sedentarismo, que inducen a sobrepeso y obesidad. La patofisiología de la DM-2 es multifacética, e incluye resistencia a insulina en tejidos periféricos, deficiencias en la secreción de insulina en los islotes pancreáticos y la inadecuada supresión de la producción de glucagón. Estos procesos resultan en la inadecuada incorporación, almacenamiento y disposición de la glucosa ingerida, lo cual aunado a una elevada producción hepática llevan a la hiperglucemia. La obesidad está implicada en el proceso patológico que culmina en el desarrollo de DM-2

mediante la promoción de la resistencia a insulina y deficiencias en su secreción. La resistencia a insulina del tejido adiposo visceral está implicada con el aumento de la lipólisis y la consecuente liberación de ácidos grasos libres. Los niveles elevados de ácidos grasos libres estimulan la acumulación de grasa en músculo esquelético e hígado, además de deteriorar la secreción de insulina en el páncreas (Carrera-Boada y Martínez-Moreno, 2013).

La prevalencia de la DM-2 se está incrementando dramáticamente en todo el mundo y en algunas zonas ha alcanzado proporciones epidémicas. Cifras actualizadas muestran que la DM-2 afecta a más de 381.8 millones de personas en todo el mundo, de los cuales el 45.8% (174.8 millones de casos) no han sido diagnosticados, y se estima que para el 2035 la cifra total de casos se eleve a 591.9 millones (Beagly et al., 2013, Guariguata et al., 2013). Este número continuará incrementándose de manera global debido al crecimiento del tamaño de la población, al envejecimiento de ésta y a su creciente urbanización que redundan en altas prevalencias de sedentarismo y obesidad. En 2013, México tenía una tasa de prevalencia de 11.8% para DM-2, con 8.7 millones de adultos diabéticos, y se estimó que para el 2035 aumentaría a 15.2% con 15.7 millones de pacientes con DM-2 (Guariguata et al., 2013).

La DM-2 es una causa considerable de muerte prematura, por lo que inversiones en la prevención primaria (antes de que se presente DM-2) y secundaria (al diagnosticarse DM-2) son necesarias para reducir esta carga. Para 2010 se estimó el número de muertes atribuibles a DM-2 en 3.9 millones de personas en el mundo

entre 20-79 años de edad, lo que representó 6.8% de la mortalidad global (Roglic y Unwin, 2010). Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios, con una proporción mayor en mujeres (55%) (WHO, 2012). Basado en estadísticas nacionales de mortalidad, la DM-2 ha sido la causa principal de muerte en México desde el 2000, seguida de enfermedades coronarias. En 2009, la DM-2 fue responsable de 77, 699 muertes, 13.76% de todas las muertes en nuestro país (Barquera et al., 2013).

El diagnóstico tardío, la falta de conciencia de la enfermedad, y el acceso insuficiente a los servicios de salud puede llevar a complicaciones como la aterosclerosis, disfunción cardíaca, retinopatía, neuropatía, nefropatía y la ceguera (WHO, 2011).

La creciente prevalencia de DM-2, aunada al gran número de complicaciones que ésta conlleva, se traduce en fuertes implicaciones económicas para los sistemas de salud en México y en todo el mundo. El 80% de los países gastan entre 5-13% del total de gasto nacional en salud en atención para la diabetes. Para el 2010, el gasto global total estimado en salud para la diabetes fue de 376 billones de dólares, pronosticando una carga económica de 490 billones para el año 2030 (Zhang et al., 2010). En 2011, México tuvo un total de gastos en diabetes de 7.7 billones de dólares, incluyendo 3.4 billones en costos directos y 4.3 billones en costos indirectos (Arredondo y Reyes, 2013).

El problema de la diabetes en México no sólo representa un alto impacto económico sino que también refleja graves problemas de inequidad y de

accesibilidad a la atención sanitaria debido a la condición social de la mayoría de la población. A pesar de los programas de prevención de la diabetes y sus complicaciones, el incremento epidemiológico ha generado incrementos significativos en la demanda de los servicios de salud. La creciente prevalencia de la obesidad infantil y adulta y del síndrome metabólico (hipertensión, dislipidemia y resistencia a insulina o tolerancia anormal a glucosa) sugieren que la situación podría ser aún peor en los años siguientes (Barquera et al., 2013).

1.2 Tratamientos actuales de la DM-2 y sus desventajas

El principal objetivo del tratamiento de la DM-2 es retrasar, e incluso prevenir, las complicaciones que conlleva esta enfermedad mediante un buen control glucémico. El tratamiento farmacológico debe acompañarse con cambios en el estilo de vida, tales como la dieta y el ejercicio. La DM-2 usualmente es tratada inicialmente con un solo agente oral. Dependiendo de la progresión de la enfermedad, eventualmente los pacientes requieren uno o más agentes orales adicionales y en muchos casos insulina. La elección de los fármacos utilizados se basa en las circunstancias de cada paciente, dependiendo de la necesidad de reducir el peso corporal, el control de glucosa en ayunas o postprandial, la presencia de dislipidemia e hipertensión y el riesgo de hipoglucemia.

El desarrollo de nuevas terapias ha resultado en más de 11 clases de medicamentos anti-hiperglucémicos, con diversos mecanismos de acción y variedad de efectos sobre los niveles de hemoglobina glicosilada A1c, el peso

corporal, perfil de lípidos y otros factores (Blonde, 2009). Los tratamientos farmacológicos más utilizados para la DM-2 incluyen inhibidores de las α -glucosidasas, sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas y tiazolidinedionas (TZD) (Inzucchi, 2002).

Los inhibidores de las α -glucosidasas, como acarbosa y miglitol, disminuyen la absorción intestinal de glucosa al inhibir la hidrólisis de carbohidratos complejos por las α -glucosidasas, disminuyendo los niveles de glucosa postprandial. Estos fármacos no causan hipoglucemia o aumento de peso, sin embargo, al solo afectar niveles postprandiales de glucosa son menos efectivos que otros medicamentos hipoglucemiantes y presentan efectos secundarios como la flatulencia, dolor abdominal y diarrea (Sheehan, 2003).

Las sulfonilureas estimulan la secreción de insulina en las células β del páncreas mediante la unión a un receptor específico, que cierra los canales de potasio dependientes de ATP induciendo la despolarización de la membrana celular, el flujo de iones de calcio y la subsecuente liberación de insulina. Las sulfonilureas pueden provocar hipoglucemia, incremento del apetito y aumento de peso (Hall y Nicholson, 2009). Las meglitinidas, al igual que las sulfonilureas, funcionan como secretagogos de la insulina pero actúan muy rápidamente, lo que induce un mayor descenso de la glucosa y aumenta el riesgo de hipoglucemia (Luna y Feinglos, 2001).

Las biguanidas, como la metformina, disminuyen la generación de glucosa hepática e inhiben la glucogenólisis y, en menor medida, mejoran la sensibilidad a

la insulina, particularmente en músculo esquelético. Otros efectos benéficos de las biguanidas incluyen la reducción de niveles de triglicéridos y de la concentración de lipoproteínas de baja densidad. El mecanismo de acción de estos compuestos aún no es totalmente comprendido, sin embargo, Zhou et al. (2001) descubrieron que la metformina activa la proteína cinasa activada por adenosina monofosfato (AMPK) en el hígado y el músculo. La activación de AMPK hepática resulta en el bloqueo de la síntesis de lípidos y la promoción de la oxidación de ácidos grasos. Los efectos secundarios de las biguanidas son problemas gastrointestinales como náusea, dolor abdominal y diarrea, además en algunas ocasiones pueden provocar acidosis láctica e insuficiencia renal (Luna y Feinglos, 2001; Spiller y Sawyer, 2006).

Las tiazolidinedionas (TZD), como la rosiglitazona y la pioglitazona, son potenciadores de la sensibilidad a insulina que actúan predominantemente en músculo y tejido adiposo, y en menor medida inhiben la gluconeogénesis hepática. Estos agentes mejoran la sensibilidad a insulina al incrementar la eficacia de los transportadores de glucosa. Además, disminuyen los niveles de hemoglobina glicosilada A1c y los niveles de glucosa en ayuno y postprandial. Las TZD actúan como agonistas del receptor gamma activado por proliferadores del peroxisoma (PPAR- γ) en el tejido adiposo, lo que activa la transcripción de genes adipogénicos (enzimas lipogénicas y proteínas de unión a ácidos grasos) y produce cambios en el metabolismo y distribución de lípidos. Ya que las TZD no incrementan la secreción de insulina, no causan hipoglucemia al ser utilizadas

como monoterapia, pero pueden provocarla en combinación con otros fármacos (Luna y Feinglos, 2001). Otro de sus efectos es la disminución de ácidos grasos libres en circulación, lo que puede reducir la exposición de las células β del páncreas a la lipotoxicidad. No obstante, las TZD tienen diversos efectos secundarios: inducen esteatosis hepática en sujetos no alcohólicos (Caldwell et al., 2007), inhiben la regeneración hepática (Turnelle et al., 2006), inducen la obesidad (de Souza et al., 2001), provocan osteoporosis (Rzonca et al., 2004) y aumentan el riesgo de falla cardíaca (Chaggar et al., 2009).

Los tratamientos actualmente utilizados para el mantenimiento de la DM-2 restauran de manera ineficiente los niveles de glucemia. Además, todos ellos provocan diversos efectos no deseados. Por ello es altamente deseable el desarrollo de nuevos agentes antidiabéticos que restauren de manera eficiente los niveles de glucemia sin los efectos secundarios de los tratamientos actuales.

1.3 Vía de la insulina como blanco terapéutico

Las bases moleculares de la DM-2 aún no son completamente comprendidas, sin embargo, un evento central de esta afección es la disfunción en la vía de señalización de la insulina que lleva a la resistencia a esta hormona. La insulina es una hormona anabólica que promueve el almacenamiento y síntesis de lípidos, proteínas y carbohidratos e inhibe su degradación y liberación a la circulación. La principal función de la insulina es la de estimular la incorporación de glucosa en los tejidos muscular y adiposo, actuando como principal regulador de la

concentración de glucosa en sangre (Chang et al., 2004). Este proceso involucra una cascada de señales moleculares activadas en respuesta a la insulina que desencadena la translocación del transportador de glucosa GLUT4 a la membrana plasmática (Cushman y Wardzala, 1980; Kandror y Pilch, 1996; Thong et al., 2005).

La incorporación de glucosa mediada por la insulina en sus células blanco (células adiposas y musculares) es iniciada por la unión de esta hormona al receptor de la insulina (RI), que consiste en un heterotetrámero en una configuración β - α - α - β . Las subunidades α son completamente extracelulares, mientras que las subunidades β poseen un segmento transmembranal y un dominio citosólico con actividad de tirosinacinasas (Cushman y Wardzala, 1980; Kandror y Pilch, 1996; Thong et al., 2005, Watson et al., 2004). La unión de la insulina a sitios específicos de las subunidades α induce cambios conformacionales en el receptor y promueve su autofosforilación en residuos de tirosina específicos en la región intracelular de las subunidades β (Cushman y Wardzala, 1980; Kandror y Pilch, 1996, Thong et al., 2005). Las subunidades activas del RI fosforilan residuos de tirosina en sustratos intracelulares del receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2) para iniciar la transducción de la señal (White, 1998; Chang et al., 2004). La fosforilación en sitios específicos del IRS conduce a la activación de dos diferentes vías de señalización en cascada incluyendo la vía de la fosfoinositol-3 cinasa (PI3K) y la vía de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) (Watson et al., 2004). Se ha sugerido que la vía MAPK está involucrada en la regulación del crecimiento

celular mientras que la vía de PI3K está relacionada con el metabolismo celular y el sistema cardiovascular (Watson et al., 2004). Una vez que las proteínas p85/p110 (subunidades catalítica y reguladora de PI3K) se asocian con el IRS, PI3K se activa y estimula la producción del lípido denominado fosfatidil inositol 3, 4, 5 trifosfato (PIP3) (Watson et al., 2004), que regula la localización y actividad de numerosas proteínas (Chang et al., 2004). La acumulación de PIP3 resulta en la activación de la cinasa dependiente de fosfoinosítidos (PDK1) y la fosforilación de la proteína cinasa B (PKB o AKT) en los residuos T308 y S473, lo que promueve la remodelación del citoesqueleto. Finalmente esto favorece la translocación de GLUT4, un transportador de glucosa sensible a insulina, desde sus depósitos intracitoplásmicos hasta la membrana plasmática. Tras su translocación, GLUT4 media el movimiento de glucosa desde la sangre al interior de las células (Watson et al., 2004).

Dada la importancia de la insulina en el control del metabolismo de lípidos y carbohidratos, las vías de señalización por las cuales ejerce sus efectos resultan en uno de los blancos terapéuticos más promisorios para el tratamiento de la DM-2. El desarrollo de agentes que actúen directamente sobre las moléculas implicadas en el mecanismo de acción de la insulina permitirá ofrecer terapias más eficaces y nuevas oportunidades para el control de la DM-2 y sus complicaciones.

1.4 La herbolaria como fuente de nuevos compuestos para el tratamiento de DM-2

La medicina complementaria y alternativa se define como un conjunto de sistemas, prácticas y productos que, en general, no se consideran parte de la medicina convencional (denominada medicina occidental o alopática). Las prácticas de medicina complementaria y alternativa suelen agruparse en categorías amplias que incluyen el uso de productos naturales, medicina homeopática, medicina de la mente y el cuerpo (meditación, yoga, acupuntura y oraciones), así como prácticas de manipulación corporal (quiropática) y terapias energéticas (terapia magnética) (NCCAM, 2002). La presencia de enfermedades crónicas, debilitantes o dolorosas es una de las razones consistentes por las que las personas buscan las terapias complementarias o alternativas (Eisenberg et al., 1998). La DM es una de estas enfermedades, en la que los efectos secundarios no deseables de los medicamentos actualmente utilizados para su tratamiento, el limitado acceso a los sistemas de salud y los factores culturales motivan a los pacientes a usar terapias alternativas.

El uso de terapias alternativas ha ido en aumento alrededor del mundo en los últimos años. Alrededor del 70% de los pacientes diabéticos adultos refieren el uso de alguna terapia alternativa, siendo la herbolaria una de las principales (15%), solo superada por las oraciones (61%) (Pagán y Tanguma, 2007). La prevalencia del uso de terapias alternativas varía entre los países (del 17% al 78%) dado las condiciones socioculturales de cada región (Chang et al., 2007). En México, 62%

de los pacientes diabéticos recurre al uso de plantas medicinales para el tratamiento de la DM-2 (Argaéz-López et al., 2003).

Alrededor del mundo más de 1200 especies de plantas se utilizan para el tratamiento empírico de la DM-2, de las cuales alrededor de 350 han sido ensayadas experimentalmente (Alarcón-Aguilar et al., 2002). En México se estima que alrededor de 500 especies diferentes son utilizadas por la población, sin embargo, solo unas 306 especies de 235 géneros pertenecientes a 93 familias han sido documentadas como hipoglucemiantes (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

El mercado global de medicinas herbales ha ido en aumento constante en los últimos años generando billones de dólares al año, sin embargo, la evidencia científica que respalde la efectividad y seguridad de los diversos productos es limitada (WHO, 2008). Numerosos reportes muestran los efectos antidiabéticos de diversas plantas, sin embargo, para muchas de ellas se desconocen sus principios activos y el mecanismo de acción por el cual actúan. La identificación de los compuestos activos presentes en estas plantas y la comprensión de su mecanismo de acción son de gran importancia para el desarrollo de nuevos agentes antidiabéticos que sean más eficientes y no provoquen los efectos secundarios de los tratamientos actuales. Por ello, enfocamos nuestro trabajo en el estudio de las propiedades antidiabéticas y los mecanismos de acción de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana reputadas como hipoglucemiantes, así como en algunos de los compuestos reportados para éstas.

1.4.1 *Teucrium cubense*

Teucrium cubense Jacq (Lamiaceae), conocida como gallina ciega, es una planta de tallos cuadrados con hojas divididas y flores en forma de tubo. Originaria de México y El Caribe, crece en climas cálidos. Esta planta es ampliamente utilizada en el tratamiento empírico de la DM-2. Estudios previos muestran que extractos acuosos de *Teucrium cubense* disminuyen los niveles de glucosa sanguínea en conejos sanos (Román-Ramos et al., 1991), sin embargo, los mecanismos por los que ejerce sus propiedades antidiabéticas no se han evaluado.

1.4.2 *Tecoma stans*

Tecoma stans (L) Juss. Ex Kunth (Bignoniaceae), conocida como tronadora, es un arbusto de 1 a 8 m de altura con flores que semejan pequeñas campanas amarillas. Es originaria de Florida, México y Sudamérica, y se presenta en climas cálido o semicálido, seco y templado. Esta especie es utilizada extensamente en la medicina tradicional para el tratamiento de la DM-2. La actividad hipoglucemiante de *Tecoma stans* ha sido confirmada en modelos animales donde mostró una mejoría de la tolerancia a glucosa en conejos sanos (Román-Ramos et al., 1991). Sus propiedades antidiabéticas se han atribuido a la presencia de alcaloides, como tecostanina y tecomina, pero los efectos de estos compuestos son controversiales (Costantino et al., 2003a; 2003b; Hammouda et al., 1964; Hammouda y Amer, 1966). Un estudio mostró el efecto hipoglucemiante de *Tecoma stans* y sugiere que éste es llevado a cabo mediante la disminución de la

absorción intestinal de glucosa en ratas (Aguilar-Santamaría et al., 2009), sin embargo, esto no excluye la posibilidad de mecanismos antidiabéticos alternos en esta planta.

1.4.3 *Magnolia dealbata*, honokiol y magnolol

Magnolia dealbata Zucc (Magnoliaceae), una especie endémica de México (Velazco-Macias et al., 2008), es utilizada tradicionalmente como tranquilizante, para el tratamiento de la epilepsia, enfermedades cardiacas e hipertensión (Gutiérrez, 1993; Gutiérrez y Vovides, 1997; Pérez-Escandón et al., 2003). Sin embargo, su potencial antidiabético no se ha evaluado. Otras especies del mismo género, como *Magnolia ovata* (A.St.-Hil.) Spreng y *Magnolia officinalis* (Rehder & E.H. Wilson), son utilizadas en la medicina tradicional brasileña y coreana para el tratamiento de la DM-2 (Mors et al., 2006; Kim et al., 2007). En estas especies, el honokiol (HK) y el magnolol (MG) son considerados los principales compuestos bioactivos (Maruyama y Kuribara, 2000). Se ha reportado que MG reduce la glucosa en ayunas y los niveles de insulina en plasma en ratas diabéticas Goto-Kakizaki (Sohn et al., 2007), e induce la incorporación de glucosa en adipocitos 3T3-L1 (Choi et al., 2009). También, se ha mostrado que MG estimula la diferenciación adiposa y la acumulación lipídica en adipocitos 3T3-L1 y en células pluripotentes C3H10T1/2 (Choi et al., 2009) pero no afecta el peso corporal en ratas diabéticas Goto-Kakizaki (Sohn et al., 2007), sin embargo, esto resulta

contradictorio. Hasta el momento, los efectos de HK en el desarrollo de tejido adiposo y la incorporación de glucosa no han sido descritos.

1.4.4 *Justicia spicigera*

Justicia spicigera Schlttdl (Acanthaceae), comúnmente conocida como muicle o mohuite, es un arbusto de 1-1.5 m de altura, densamente ramificado con flores tubulares naranjas. Este arbusto, nativo de México a Sudamérica, crece en climas cálidos y está ampliamente distribuido en la península de Yucatán y en la huasteca potosina. La infusión de las hojas es utilizada de manera tradicional para el dolor de cabeza, hipertensión, epilepsia y para trastornos digestivos. Además, la decocción de hojas y ramas es utilizada para afecciones de la piel como erisipelas. Algunos reportes describen el uso de infusiones y decocciones de las partes aéreas de *J. spicigera* en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento empírico de la DM-2 (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Arellano-Rodríguez et al., 2003; Graham, 1990; Johnson et al., 2006; Meckes et al., 2004; Vega-Ávila et al., 2009). Los indígenas Teenek de la huasteca potosina (San Luis Potosí, México) utilizan el té de hojas de *J. spicigera* (20 g/l agua) antes de cada comida (Ortiz-Andrade, comunicación personal, 2012). Sin embargo, no existe evidencia científica de las propiedades antidiabéticas de esta planta.

1.4.5 *Ibervillea sonora*

Ibervillea sonora (S. Watson) Greene (Cucurbitaceae), una planta localmente conocida como wereke, es una planta dioica perenne distribuida en los estados de Sonora y Sinaloa. Es utilizada extensamente en México para el tratamiento empírico de la DM-2 y su popularidad ha impulsado la aparición de múltiples formulaciones comerciales de wereke, sin embargo, la efectividad de las propiedades antidiabéticas de estas preparaciones no ha sido confirmada. La actividad hipoglucemiante de *Ibervillea sonora* ha sido reportada para extractos acuosos, jugo crudo y maceraciones con diclorometano y metanol probados en ratones y ratas sanas y tratados con alloxan (Alarcón-Aguilar et al., 2002; 2005). Además, algunos monoglicéridos y ácidos grasos han sido aislados de un extracto diclorometánico de esta planta, y han sido propuestos como el responsable de su actividad hipoglucemiante (Hernández-Galicia et al., 2007). Recientemente, un estudio realizado en un modelo murino de obesidad e hiperglucemia inducido por una dieta alta en calorías, mostró que un extracto acuoso de la raíz de *I. sonora* previene la obesidad, dislipidemia e hiperglucemia (Rivera-Ramírez et al., 2011). Sin embargo, los mecanismos que median las propiedades antidiabéticas de *I. sonora* aún no han sido explorados.

1.4.6 *Parkinsonia aculeata*

Parkinsonia aculeata L. (Fabaceae) es un abundante árbol silvestre en zonas tropicales, comúnmente conocido como retama, espino de Jerusalén y palo verde mexicano (Correll y Johnston, 1970). Crece de 4-10 m de altura, el tronco y ramas son verdes con espinas de 7 a 12 mm de largo. Tiene hojas de 20-40 cm de largo que contienen 20-30 pares de folíolos ovales de 3-8 mm y racimos de flores amarillas de 5 pétalos (Divya et al., 2011; Peña-Chocarro, 2006). *P. aculeata* es utilizada como árbol ornamental y en la medicina tradicional se utilizan infusiones y decocciones de hojas, flores y frutos como remedios para reducir la fiebre, prevenir la malaria y como abortivo. Maceraciones en alcohol de las flores y hojas se utilizan para el reumatismo (Divya et al., 2011; Orwa et al., 2009).

P. aculeata es una de las plantas ampliamente utilizadas en la medicina tradicional mexicana como hipoglucemiante (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), sin embargo, existe poca evidencia de las propiedades antidiabéticas de esta planta y sus mecanismos de acción no han sido evaluados. Estudios realizados en modelos de ratas diabéticas mostraron que una fracción soluble en agua, un extracto hidroetanólico y un extracto metanólico de *P. aculeata* disminuyen los niveles de glucosa en sangre y orina, y mejoran los parámetros bioquímicos y fisiológicos relacionados al metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (Leite et al., 2007; 2011; Marzouk et al., 2013).

1.4.7 Isoorientina y Vitexina

La isoorientina (ISO) y la vitexina (8- β -D-glucopiranosil-apigenina) son c-glicosilflavonas presentes en numerosas plantas (*Terminalia catappa*, *Argyrolobium Roseum*, *Cajanus cajan*, *Parkinsonia aculeata*, *Gleditsia triacanthos* y diversas variedades de frijol mungo) utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la DM-2 (Ahmed et al., 2005, 2008; Anwar et al., 2010; Besson et al., 1980; López-Lázaro, 2009; Mohammed et al., 2013; Yang et al., 2011). Existe poca evidencia de las propiedades antidiabéticas de estas flavonas, por lo que su mecanismo antidiabético aún no es completamente comprendido. Estudios previos han mostrado que ISO reduce la glucosa plasmática y los niveles de colesterol y triglicéridos en ratas tratadas con estreptozotocina (Sezik et al., 2005). Sin embargo, resultados obtenidos en modelos animales y ensayos clínicos descartan la posibilidad de que los efectos de ISO se deban a la estimulación de la secreción de insulina (Sezik et al., 2005; Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001; Revilla-Monsalve et al., 2007) o a la modulación de la absorción intestinal de glucosa (Shibano et al., 2008). Recientemente, ensayos *in vitro* mostraron que vitexina, aislada de *Vigna angularis*, posee actividad inhibitoria de las α -glucosidasas (Yao et al., 2011). Choo et al. (2012) aislaron vitexina de hojas de *Ficus deltoidea*, y mostraron que ésta reduce los niveles postprandiales de glucosa en ratones normoglicémicos y en ratas diabéticas, sugiriendo que se debe a la actividad inhibitoria de las α -glucosidasas, sin embargo, no se descartan otros posibles mecanismos antidiabéticos.

Nuestros resultados muestran que extractos de plantas como *T. stans*, *T. cubense*, *Magnolia dealbata* y sus compuestos activos, honokiol y magnolol, así como *Justicia spicigera*, *I. sonorae* y *P. aculeata* y los compuestos isoorientina y vitexina, inducen la incorporación de glucosa en adipocitos múridos y humanos sensibles y resistentes a insulina. Además, las preparaciones de *I. sonorae*, *P. aculeata*, *M. dealbata* y sus compuestos activos, honokiol y magnolol, así como isoorientina y vitexina inducen la incorporación de glucosa en adipocitos múridos y humanos a través de la vía de señalización de la insulina.

II. Discusión

Estudios previos mostraron que extractos acuosos de *Tecoma stans*, *Teucrium cubense*, *Ibervillea sonora* y *Parkinsonia aculeata* ejercen efectos hipoglucemiantes sobre animales experimentales. Sin embargo, aún se desconocen los principios activos y los mecanismos de acción de estas especies, así como los de *Justicia spicigera* y *Magnolia dealbata*, dos especies también usadas como antidiabéticas para las que no existen evidencias experimentales. Nuestro trabajo muestra por primera vez, que plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana como antidiabéticas estimulan la incorporación de glucosa en adipocitos murinos y humanos, sensibles y resistentes a insulina, a través de la vía de señalización de esta hormona.

Nosotros utilizamos líneas celulares de preadipocitos 3T3 (Green y Kehinde, 1975) y cultivos primarios de preadipocitos humanos subcutáneos normales (Herrera-Herrera et al., 2009) como modelos *in vitro* para evaluar los mecanismos antidiabéticos de extractos acuosos de hojas de *Tecoma stans* (TSE) y *Teucrium cubense* (TCE), raíces tuberosas de *Ibervillea sonora* (ISE) y hojas (PAL) y flores (PAF) de *Parkinsonia aculeata*. También evaluamos extractos etanólicos de hojas de *Justicia spicigera* (JSE) y semillas de *Magnolia dealbata* (MDE) y los compuestos activos de esta última, honokiol (HK) y magnolol (MG), así como isoorientina (ISO) y vitexina, dos flavonoides presentes en plantas reputadas como antidiabéticas.

Concentraciones no tóxicas de los extractos para cultivos de preadipocitos se evaluaron en la incorporación de 2-NBDGlucosa por adipocitos murinos y humanos (Alonso-Castro y Salazar-Olivo, 2008). Todas las preparaciones evaluadas estimularon la incorporación de 2-NBDG en adipocitos 3T3-F442A y humanos sensibles a insulina de manera concentración-dependiente. Los efectos de las preparaciones sobre adipocitos 3T3-F442A sensibles a insulina tuvieron un efecto similar (TCE, ISE), menor (MDE, HK, MG y vitexina) o mayor (TSE, JSE, ISO, PAL, PAF) al estimulado por el control de insulina. En adipocitos humanos las preparaciones estimularon la incorporación de glucosa con un efecto similar (TSE, JSE, PAL, PAF y vitexina) o menor (TCE, MDE, HK, MG, ISE, ISO) que la insulina. Los efectos en la incorporación de glucosa de ISE, PAL y PAF también fueron evaluados en adipocitos 3T3-L1, donde ISE y PAL indujeron la incorporación de glucosa con un efecto menor al de la insulina, sin embargo los efectos de PAF fueron mayores a los inducidos por la hormona. Estos resultados sugieren que la estimulación de la incorporación de glucosa en los tejidos blanco de la insulina podría ser uno de los mecanismos por los cuales las especies analizadas ejercen sus efectos antidiabéticos (Alonso-Castro et al., 2010; Alonso-Castro et al., 2011; Alonso-Castro et al., 2012; Ortiz-Andrade et al., 2012; Zapata-Bustos et al., 2013).

La estimulación de la incorporación de glucosa mediada por MDE, HK, MG, PAL, PAF, ISO y vitexina en células murinas y humanas sensibles a insulina fue abolida por inhibidores del receptor de insulina (HNMPA-(AM)₃) (Saperstein et al., 1989), de PI3K (Wortmanina) (Tomiya et al., 1995), AKT (AKT-1) (Zhao et al., 2005) y

GLUT4 (Indinavir) (Murata et al., 2000). Estos resultados sugieren que nuestras preparaciones emplean la vía de señalización de la insulina para estimular la incorporación de glucosa en adipocitos. Por otra parte, la estimulación de la captación de glucosa mediada por ISE en adipocitos humanos fue parcialmente bloqueada por Wortmanina, un inhibidor específico de PI3K, lo que sugiere que los efectos antidiabéticos de ISE en células humanas podrían ser independientes de la señalización de PI3K.

El análisis de la activación de los elementos de la vía de señalización de la insulina mostró que ISE, PAL, PAF, ISO y vitexina inducen la fosforilación del receptor de insulina, de los sustratos del receptor de la insulina 1 y 2, de PI3K y de AKT. La activación de RI, IRS1/2, PI3K y AKT en presencia de nuestras preparaciones confirma que éstas utilizan la vía de señalización de la insulina para inducir la incorporación de glucosa en adipocitos.

Para profundizar en el mecanismo antidiabético de estas preparaciones, nosotros también evaluamos sus efectos en adipocitos múridos y humanos resistentes a insulina mediante el tratamiento con TNF- α (Hotamisligil et al., 1994). Todas las preparaciones ensayadas indujeron la incorporación de 2-NBDG en adipocitos 3T3 y humanos resistentes a insulina de manera concentración dependiente, excepto por PAL, el cual no estimuló la incorporación de glucosa en adipocitos humanos tipo-diabéticos. Sin embargo, experimentos adicionales son necesarios para precisar el mecanismo por el cual estas preparaciones revierten o superan la resistencia a insulina.

Algunos de los antidiabéticos orales actualmente en uso estimulan la formación de nuevas células adiposas y ejercen efectos obesogénicos no deseables (de Souza, 2001; Laville y Andreelli, 2000). Por ello, también evaluamos los efectos de nuestras preparaciones sobre la adipogénesis murina y humana *in vitro*. Nuestros resultados muestran que TSE, TCE, PAL y vitexina no ejercen efectos proadipogénicos apreciables en preadipocitos murinos y humanos, mientras que MDE, HL y MG ejercen efectos proadipogénicos mínimos a moderados en ambos tipos celulares. De manera interesante, ISE y PAF carecen de efectos proadipogénicos en preadipocitos 3T3-L1 y en células humanas.

La identidad de los compuestos antidiabéticos presentes en *Ibervillea sonora* y *Parkinsonia aculeata* aún se desconoce. Estudios previos con un extracto diclorometánico de *I. sonora* proponen a monoglicéridos y ácidos grasos como los responsables de su actividad hipoglucemiante (Hernández-Galicia et al., 2007). Sin embargo, esta preparación no restauró los niveles normales de glucosa en ensayos *in vivo*, y la naturaleza lipídica desacredita su posible papel como principio hipoglucemiante en las preparaciones tradicionales de *I. sonora*, mayormente acuosas. En el caso de *Parkinsonia aculeata* existen varios estudios fitoquímicos que muestran la presencia de C-glicosilflavonas como orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina y kaemperol, entre otras (Besson et al., 1980; Bhatia et al, 1966; El-Sayed et al., 1991). Sin embargo no se ha relacionado la presencia de estos compuestos con la actividad hipoglucemiante de *P. aculeata*. Por ello, nosotros exploramos la composición química de ISE, PAL y PAF.

Ensayos colorimétricos mostraron principalmente la presencia de fenoles y flavonoides para ambas especies. De manera interesante encontramos la presencia de ácido gálico en ISE (0.13% del peso seco de la raíz de *Ibervillea*). Diversos reportes muestran la actividad hipoglucemiante del ácido gálico en ratas, y su capacidad para inducir la incorporación de glucosa y la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática de adipocitos de rata (Latha y Daisy, 2011; Naowaboot et al., 2012; Punithavathi et al., 2011). Por lo tanto, el ácido gálico podría ser uno de los compuestos activos responsables de la inducción de la incorporación de glucosa en células adiposas mediada por ISE. Por otra parte, los análisis llevados a cabo en los extractos hoja y flor de *P. aculeata* mostraron la presencia de ácido clorogénico, ácido gálico, vitexina e isoorientina. Estudios previos en nuestro laboratorio mostraron los efectos del ácido clorogénico en la incorporación de 2NBDglucosa en adipocitos 3T3 sensibles y resistentes a insulina (Alonso-Castro et al., 2008). Asimismo, en el presente trabajo mostramos los efectos de isoorientina y vitexina en la incorporación de glucosa por adipocitos murinos y humanos sensibles y resistentes a insulina. Por lo tanto, estos compuestos podrían ser los responsables de los efectos hipoglucemiantes de *P. aculeata*.

Otros compuestos naturales aislados de plantas usadas como antidiabéticos por la medicina tradicional, también han sido reportados con actividad inductora de la captación de glucosa por cultivos de células sensibles a insulina. La shikonina estimula la incorporación de glucosa en adipocitos 3T3-L1 (Kamei et al., 2002) y

en miotubos L6 de músculo esquelético a través de una independiente de insulina (Öberg et al., 2011). Los ginsenósidos Rb(1), Re, Ck, Rg1 y Rg3, aislados de especies de *Panax*, estimulan el transporte de glucosa en adipocitos 3T3-L1 y en miotubos C2C12 o L6, principalmente mediante la activación de la vía de señalización de la insulina (Huang et al., 2010; Kim et al., 2009; Shang et al., 2008). Recientemente se ha mostrado que el ginsenósido Rg1 también promueve la incorporación de glucosa en células C2C12 resistentes a insulina (Lee et al., 2012), lo que sugiere que los demás ginsenósidos también pudieran tener actividad en células resistentes a la hormona. Sin embargo, los efectos de estos compuestos en células humanas, sensibles o resistentes a insulina, aún se desconocen.

Los mecanismos por los cuales los agentes hipoglucemiantes ejercen sus efectos incluyen la disminución de la absorción intestinal de glucosa, la estimulación de la secreción de insulina o el incremento de la incorporación de glucosa por células blanco de la insulina. Dado que la absorción de glucosa intestinal puede ser solo parcialmente limitada, y la estimulación de la secreción de insulina no es una terapia óptima para la diabetes tipo 2, la sensibilización de las células blanco de la insulina a ésta hormona es el blanco terapéutico más promisorio para la DM-2.

Este trabajo demuestra por primera vez que extractos acuosos de *Tecoma stans* (TSE), *Teucrium cubense* (TCE), *Ibervillea sonora* (ISE) y *Parkinsonia aculeata* (PAL y PAF), y extractos etanólicos de *Justicia spicigera* (JSE) y *Magnolia dealbata* (MDE) y sus compuestos activos (HK y MG), así como ISO y vitexina

estimulan la incorporación de glucosa en adipocitos murinos y humanos sensibles y resistentes a insulina. *M. dealbata* y sus compuestos activos (HK y MG), *P. aculeata*, ISO y vitexina utilizan la vía de señalización de la insulina para ejercer sus efectos, mientras que *I. sonorae* induce la incorporación de glucosa por una vía parcialmente independiente de PI3K en adipocitos humanos. Además, *I. sonorae*, *P. aculeata*, ISO y vitexina inducen la fosforilación de RI, PI3K y AKT, sugiriendo que el mecanismo de acción de estas preparaciones es llevado a cabo por la activación de los elementos de la vía de señalización de la insulina. Nuestros resultados sugieren que *Tecoma stans*, *Teucrium cubense*, *Magnolia dealbata*, *Justicia spicigera*, *Ipervillea sonorae* y *Parkinsonia aculeata* son fuentes promisorias de compuestos bioactivos aplicables al desarrollo de nuevas terapias antidiabéticas (Alonso-Castro et al., 2010; Alonso-Castro et al., 2011; Alonso-Castro et al., 2012; Ortiz-Andrade et al., 2012; Zapata-Bustos et al., 2013).

III. Conclusiones

- Los extractos acuosos de *Tecoma stans*, *Teucrium cubense*, *Ibervillea sonora* y *Parkinsonia aculeata*, así como los extractos etanólicos de *Magnolia dealbata* y *Justicia spicigera*, y los compuestos honokiol, magnolol, isoorientina y vitexina, inducen la incorporación de glucosa por cultivos de adipocitos múridos y humanos, sensibles y resistentes a insulina.
- El extracto etanólico de *Magnolia dealbata*, el extracto acuoso de *Parkinsonia aculeata* y los compuestos honokiol, magnolol, isoorientina y vitexina utilizan totalmente la vía de señalización de la insulina para estimular la incorporación de glucosa en adipocitos múridos y humanos sensibles a la hormona.
- El extracto acuoso de *Ibervillea sonora* utiliza una vía parcialmente independiente de PI3K para estimular la incorporación de glucosa en adipocitos humanos.
- Los extractos acuosos de *Ibervillea sonora* y *Parkinsonia aculeata* y los compuestos isoorientina y vitexina inducen la fosforilación del receptor de insulina, PI3K y AKT en adipocitos múridos y humanos sensibles y resistentes a insulina.
- Los extractos acuosos de *Ibervillea sonora* y de las flores de *Parkinsonia aculeata* no ejercen efectos proadipogénicos sobre preadipocitos humanos.

- La incorporación de glucosa por adipocitos podría ser uno de los mecanismos por los cuales *Tecoma stans*, *Teucrium cubense*, *Magnolia dealbata* y sus compuestos activos honokiol y magnolol, *Justicia spicigera*, *Ibervillea sonora*, *Parkinsonia aculeata*, isoorientina y vitexina ejercen sus propiedades antidiabéticas.

IV. Perspectivas

- Purificación e identificación de los compuestos activos presentes en las plantas estudiadas mediante ensayos de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas (LC-MS) guiados por ensayos de actividad biológica.
- Caracterizar a mayor detalle los mecanismos de acción de nuestras preparaciones
 - Evaluar la interacción de las preparaciones con el receptor de insulina para determinar el mecanismo por el cual revierten la resistencia a insulina y reactivan la señalización mediante análisis estructural y funcional.
 - Analizar la interacción de nuestras preparaciones con PI3K para determinar su posible activación directa y subsecuente transducción de la señal mediante la determinación de generación de PI3P y análisis estructural.
- Caracterizar los efectos *in vivo* de nuestras preparaciones en modelos animales normoglucémicos y con hiperglucemia inducida (sin daño a páncreas) para la determinación de efectos tóxicos, la dosis efectiva media, efectos crónico y agudo en los niveles de glucosa sanguínea, efectos en el peso corporal, en la distribución del tejido adiposo y en el perfil sanguíneo de lípidos.

V. Referencias

- Aguilar-Santamaría, L., Ramírez, G., Nicasio, P., Alegría-Reyes, C., Herrera-Arellano, A. 2009. Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. J Ethnopharmacol 124:284–288.
- Ahmed, S.M., Swamy, B.M.V., Gopkumar, P., Dhanapal, R., Chandrashekara, V.M. 2005. Anti-Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn. leaf extracts in alloxan-induced diabetic rats. IJPT 4:36-39.
- Ahmed, Z., Bhagat A., Gupta, O.P., Gupta, K.K., Ram, G., Qazi, G.N. 2008. Insulin secretagogue fraction of *Argyrolobium Roseum*. Diabetol Croat 37:1-12.
- Alarcón-Aguilar, F.J., Roman-Ramos, R., Flores-Saenz, J.L., Aguirre-García, F. 2002. Investigation on the hypoglycemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. Phytother Res 16:383–386.
- Alarcón-Aguilar, F.J., Calzada-Bermejo, F., Hernandez-Galicia, E., Ruiz-Angeles, C., Roman-Ramos, R. 2005. Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonorae* extracts-II. J Ethnopharmacol 97:447-452.
- Alonso-Castro, A.J., Miranda-Torres, A.C., González-Chávez, M.M., Salazar-Olivo, L.A. 2008. *Cecropia obtusifolia* Bertol and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. J Ethnopharmacol 120: 458–464.
- Alonso-Castro, A.J., Salazar-Olivo, L.A. 2008. The anti-diabetic properties of *Guazuma ulmifolia* Lam are mediated by the stimulation of glucose uptake in

- normal and diabetic adipocytes without inducing adipogenesis. *J Ethnopharmacol* 118:252-256.
- Alonso-Castro, A.J., Zapata-Bustos, R., Domínguez, F., García-Carrancá, A., Salazar-Olivo, L.A. 2011. *Magnolia dealbata* Zucc and its active principles honokiol and magnolol stimulate glucose uptake in murine and human adipocytes using the insulin-signaling pathway. *Phytomedicine* 18:926– 933.
- Alonso-Castro, A.J., Zapata-Bustos, R., Gómez-Espinoza, G., Salazar-Olivo, L.A. 2012. Isoorientin reverts TNF- α -induced insulin resistance in adipocytes activating the insulin signaling pathway. *Endocrinology* 153:5222–5230.
- Alonso-Castro, A.J., Zapata-Bustos, R., Romo-Yañez, J., Camarillo-Ledesma, P., Gómez-Sánchez, M., Salazar-Olivo, L.A. 2010. The antidiabetic plants *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth (Bignoniaceae) and *Teucrium cubense* Jacq (Lamiaceae) induce the incorporation of glucose in insulin-sensitive and insulin-resistant murine and human adipocytes. *J Ethnopharmacol* 127:1–6.
- Andrade-Cetto, A., Heinrich, M. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol* 99:325–348.
- Andrade-Cetto, A., Wiedenfeld, H. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 78:145–149.
- Anwar, M., Kalpana, M.A, Bhadra, B., Rahman, S., Sarker, S., Chowdhury, M.H., Rahmatullah, M. 2010. Antihyperglycemic activity and brine shrimp lethality studies on methanol extract of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. leaves and roots. *Adv Nat Appl Sci* 4:311-316.

- Arellano-Rodríguez, J.A., Flores Guido, J.S., Tun-Garrido, J., Cruz-Bojórquez, M.M. 2003. Nomenclatura, forma de vida, uso, manejo y distribución de las especies vegetales de la península de Yucatán. *Etnoflora Yucatanense* 20:5–6.
- Argáez-López, N., Wacher, N.H., Kumate-Rodríguez, J., Cruz, M., Talavera, J., Rivera-Arce, E., Lozoya, X. 2003. The use of complementary and alternative medicine therapies in type 2 diabetic patients in Mexico. *Diabetes Care* 26:2470.
- Arredondo, A., Reyes, G. 2013. Health disparities from economic burden of diabetes in middle-income countries: evidence from México. *PLoS ONE* 8: e68443.
- Barquera, S., Campos-Nonato, I., Aguilar-Salinas, C., Lopez-Ridaura, R., Arredondo, A., Rivera-Dommarco, J. 2013. Diabetes in Mexico: cost and management of diabetes and its complications and challenges for health policy. *Global Health* 9:3.
- Beagley, J., Guariguata, L., Weil, C., Motala, A.A. 2013. Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2013 for the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.001>
- Besson, E., Chopin, J., Gunasegaran, R., Nair, A.G.R. 1980. C-glycosides of the leaves of *Parkinsonia aculeate*. *Phytochemistry* 19:2787-2788.
- Bhatia, V.K., Gupta, S.R., Seshadri, T.R. 1966. C-glycosides of the leaves of *Parkinsonia aculeate*. *Tetrahedron*, 22: 1147-1152.

- Blonde, L. 2009. Current antihyperglycemic treatment strategies for patients with type 2 diabetes mellitus. *Cleve Clin J Med* 76:4-11.
- Caldwell, S.H., Patrie, J.T., Brunt, E.M., Redick, J.A., Davis, C.A., Park, S.H., Neuschwander-Tetri, B.A. 2007. The effects of 48 weeks of rosiglitazone on hepatocyte mitochondria in human nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 46:1101-7.
- Carrera-Boada, C.A., Martínez-Moreno, J.M. 2013. Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo “insulin resistance-secretion deficit”. *Nutr Hosp* 28:78-87.
- Chaggar, P.S., Shaw, S.M., Williams S.G. 2009. Thiazolidinediones and heart failure. *Diab Vasc Dis Res* 6:146.
- Chang, L., Chiang, S.H., Saltiel, A.R. 2004. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. *Mol Med* 10:65-71.
- Chang H.Y., Wallis, M., Tiralongo, E. 2007. Use of complementary and alternative medicine among people living with diabetes: literature review. *J Adv Nurs* 58:307–319.
- Choi, S.S., Cha, B.Y., Lee, Y.S., Yonezawa, T., Teruya, T., Nagai, K., Woo, J.T. 2009. Magnolol enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells. *Life Sci* 84:908–914.
- Choo, C.Y., Sulong, N.Y., Man, F., Wong, T.W. 2012. Vitexin and isovitexin from the Leaves of *Ficus deltoidea* with in-vivo α -glucosidase inhibition. *J Ethnopharmacol* 142:776–781.

- Correll, D.S., Johnston, M.C. 1970. Manual of the Vascular Plants of Texas. Texas Research Foundation, Renner, TX., USA., pp:1881.
- Costantino, L., Lins, A.P., Barlocco, D., Celotti, F., el-Abady, S.A., Brunetti, T., Maggi, R., Antolini, L. 2003a. Characterization and pharmacological actions of tecostanine, an alkaloid of *Tecoma stans*. *Pharmazie* 58:140–142.
- Costantino, L., Raimondi, L., Pirisino, R., Brunetti, T., Pessotto, P., Giannessi, F., Lins, A.P., Barlocco, D., Antolini, L., El-Abady, S.A. 2003b. Isolation and pharmacological activities of the *Tecoma stans* alkaloids. *Il Farmaco* 58:781–785.
- Cushman, S.W., Wardzala, L.J. 1980. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. Apparent translocation of intracellular transport systems to the plasma membrane. *J Biol Chem* 255:4758-4762.
- de Souza, C.J., Eckhardt, M., Gagen, K., Dong, M., Chen, W., Laurent, D., Burkey, B.F. 2001. Effects of pioglitazone on adipose tissue remodeling within the setting of obesity and insulin resistance. *Diabetes* 50:1863-1871.
- Divya, B., Mruthunjaya, K., Manjula, S.N. 2011. *Parkinsonia aculeata*: a phytopharmacological review. *Asian J Plant Sci* 10:175-181.
- Domínguez, X., Achenbach, H., González, C.C., Ferré-D'Amare, A.R. 1990. Estudio químico del muitle (*Justicia spicigera*). *Rev Latinoamer Quím* 21:142–143.

- Eisenberg, D.M., Davis R.B. Ettner, S.L., Appel, S., Wilkey, S., Van Rompay, M., Kessler, R.C. 1998. Trends in alternative medicine use in the United States. Results of a follow-up national survey. *JAMA* 280:1569–1575.
- El-Sayed, N.H., Ahmed, A.A., Ishak, M.S., Kandil, F.E. 1991. Luteolin 7. 4'-dimethyl ether 6-C-glucoside from *Parkinsonia aculeate*. *Phytochem* 30:2442.
- Graham, V.A. 1990. Delimitation and infra-generic classification of *Justicia* (Acanthaceae). *Kew Bull* 43:551–624.
- Green, H., Kehinde, O. 1975. An established preadipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell* 5:19-27.
- Guariguata, L., Whiting, D.R., Beagley, J., Linnenkamp, U., Hambleton, I., Cho, N.H., et al. 2013 Global estimates of diabetes prevalence in adults for 2013 and projections for 2035 for the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract* [http:// dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002](http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002).
- Gutierrez, L. 1993. Estudio biológico de una especie forestal endémica (*Magnolia dealbata* Zucc.). M.C. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Gutierrez, L., Vovides, A. 1997. An *in situ* study of *Magnolia dealbata* Zucc in Veracruz State: an endangered endemic tree of Mexico. *Biodivers Conserv* 6:89–97.
- Hall, G.M., Nicholson, G. 2009. Current therapeutic drugs for type 2 diabetes, still useful after 50 years? *Anesth Analg* 108:1727-1730.

- Hammouda, Y., Rashid, A.K., Amer, M.S. 1964. Hypoglycaemic properties of Tecomine and Tecostanine, *J Pharm Pharmacol* 16:833-835.
- Hammouda, Y., Amer, M.S. 1966. Antidiabetic effect of Tecomine and Tecostanine, *J Pharm Sci* 55:1452-1454.
- Hernández-Galicia, E., Calzada, F., Roman-Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F.J. 2007. Monoglycerides and fatty acids from *Ibervillea sonora* root: isolation and hypoglycemic activity. *Planta Med* 73:1-5.
- Herrera-Herrera, M.L., Zapata-Bustos, R., Salazar-Olivo, L.A. 2009. Simplified culture techniques for growth and differentiation of murine and human pre-adipocytes for translational applications. *Cytotherapy* 11:52-60.
- Hotamisligil, G.S., Murray, D.L., Choy, L.N., Spiegelman, B.M. 1994. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:4854-4858.
- Huang, Y.C., Lin, C.Y., Huang, S.F., Lin, H.C., Chang, W.L., Chang, T.C. 2010. Effect and mechanism of ginsenosides CK and Rg1 on stimulation of glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *J Agric Food Chem* 58: 6039–6047.
- Inzucchi S.E. 2002. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes. *JAMA* 287:360-372.
- Johnson, L., Strich, H., Taylor, A., Timmermann, B., Malone, D., Teufel-Shone, N., Drummond, R., Woosley, R., Pereira, E., Martinez, A. 2006. Use of herbal remedies by diabetic Hispanic women in the south western United States. *Phytother Res* 20:250–255.

- Kamei, R., Kitagawa, Y., Kadokura, M., Hattori, F., Hazeki, O., Ebina, Y., Nishihara, T., Oikawa, S. 2002. Shikonin stimulates glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes via an insulin-independent tyrosine kinase pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 292:642–651
- Kandror, K.V., Pilch, P.F. 1996. Compartmentalization of protein traffic in insulin-sensitive cells. *Am J Physiol* 271:E1-E14.
- Kim, M., Ahn, B.Y., Lee, J.S., Chung, S.S., Lim, S., Park, S.G., Jung, H.S., Lee, H.K., Park, K.S. 2009. The ginsenoside Rg3 has a stimulatory effect on insulin signaling in L6 myotubes. *Biochem Biophys Res Commun* 389:70–73.
- Kim, Y.S., Jung, D.H., Kim, N.H., Lee, Y.M., Kim, J.S. 2007. Effect of magnolol on TGFbeta1 and fibronectin expression in human retinal pigment epithelial cells under diabetic conditions. *Eur J Pharmacol* 562, 12–19.
- Latha, R.C.R., Daisy, P., 2011. Insulin-secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica* Roxb. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chem Biol Interact* 189: 112–118.
- Laville, M., Andreelli, F. 2000. Mécanismes de la prise de poids en cas de normalisation glycémique. *Diabetes Metab* 26:42s-45s.
- Lee, H.M., Lee, O.H., Kim, K.J., Lee, B.Y. 2012. Ginsenoside Rg1 promotes glucose uptake through activated AMPK Pathway in insulin-resistant muscle cells. *Phytother Res* 26:1017–1022.
- Leite, A.C.R., Araujo, T.G., Carvalho, B.M., Maia, M.B.S., Lima, V.L.M. 2011. Characterization of the antidiabetic role of *Parkinsonia aculeata* (Caesalpineaceae). *Evid Based Complement Alternat Med* 1-9.

- Leite, A.C.R., T.G. Araujo, B.M. Carvalho, N.H. Silva and Lima VLM. 2007. *Parkinsonia aculeata* aqueous extract fraction: Biochemical studies in alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 111:547-552.
- López-Lázaro, M. 2009. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini-Rev Med Chem* 9:31–59.
- Luna, B., Feinglos, M.N. 2001. Oral agents in the management of type 2 diabetes mellitus. *Am Fam Physician* 63:1747-56.
- Maruyama, Y., Kuribara, H. 2000. Overview of the pharmacological features of honokiol. *CNS Drug Rev* 6:35–44.
- Marzouk, M.S., Moharram, F.A., El Dib, R.A., El-Hossary, D.G. 2013. Novel Macrocyclic Monoterpene Glycosides from Bioactive Extract of *Parkinsonia aculeata* L. *Cell Biochem Biophys* 65:301–313.
- Meckes, M., David-Rivera, A.D., Nava-Aguilar, V., Jiménez, A. 2004. Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine* 11:446–451.
- Mohammed, R.S., Abou Zeid, A.H., El Hawary, S.S., Sleem, A., Ashour, W.E. 2013. Antidiabetic and cytotoxic activities of *Gleditsia triacanthos* L. leaves. *Planta Med* 79:175.
- Mors, W.B., Rizzini, C.T., Pereira, N.A. 2006. Medicinal Plants of Brazil. Reference Publications Inc, Algonac, MI, 216 p.
- Murata, H., Hruz, P.W., Mueckler, M. 2000. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 275:20251–20254.

- Naowaboot, J., Pannangpetch, P., Kukongviriyapan, V., Prawan, A., Kukongviriyapan, U., Itharat, A., 2012. Mulberry leaf extract stimulates glucose uptake and GLUT4 translocation in rat adipocytes. *Am J Chin Med* 40: 163-175.
- National Centre for Complementary and Alternative Medicine (2002) NCCAM Publication No. D156 – What is Complementary and Alternative Medicine? <http://nccam.nih.gov/health/whatiscam/>.
- Öberg, A.I., Yassin, K., Csikasz, R.I., Dehvari, N., Shabalina, I.G., Hutchinson, D.S., Wilcke, M., Östenson, C.G., Bengtsson, T. 2011. Shikonin increases glucose uptake in skeletal muscle cells and improves plasma glucose levels in diabetic Goto-Kakizaki rats. *PLoS One* 6:e22510.
- Ortiz-Andrade, R., Cabañas-Wuan, A., Arana-Argáez, V.E., Alonso-Castro, A.J., Zapata-Bustos, R., Salazar-Olivo, L.A., Domínguez, F., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., García-Carrancá, A. 2012. Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schlttdl (Acanthaceae). *J Ethnopharmacol* 143:455–462.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A. 2009. Agroforestry database: A tree reference and selection guide version 4.0. Nairobi, Kenya. <http://eolspecies.lifedesks.org/node/3416>.
- Pagán, J.A., Tanguma, J. 2007. Health care affordability and complementary and alternative medicine utilization by adults with diabetes. *Diabetes Care* 30:2030-2031.
- Peña-Chocarro, M., De Egea, J., Vera, M., Maturo, H., Knapp, S. 2006. Guía de árboles y arbustos del Chaco húmedo (eds. J De Egea y M Peña-Chocarro).

- The Natural History Museum, Guyra Paraguay, Fundación Moisés Bertoni y Fundación Hábitat y Desarrollo. Asunción, Paraguay. 244–245 pp.
- Pérez-Escandón, B.E., Villavicencio-Nieto, M.A., Ramírez-Aguirre, A. 2003. Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Biológicas, 133 p.
- Punithavathi, V.R., Prince, P.S.M., Kumar, R., Selvakumari, J., 2011. Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *Eur J Pharmacol* 650, 465-471.
- Revilla-Monsalve, M.C., Andrade-Cetto, A., Palomino-Garibay, M.A., Wiedenfeld, H., Islas-Andrade, S. 2007. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *J Ethnopharmacol* 111:636–640.
- Rivera-Ramírez, F., Escalona-Cardoso, G.N., Garduño-Siciliano, L., Galaviz-Hernández, C., Paniagua-Castro, N. 2011. Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonora* in mice fed a high-fat diet with fructose. *J Biomed Biotechnol* Article ID 968984.
- Rodger, W. 1991. Non-insulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *CMAJ* 145:1571-1581.
- Roglic, G., Unwin, N. 2010. Mortality attributable to diabetes: Estimates for the year 2010. *Diabetes Res Clin Pract* 87:15–19.

- Román-Ramos, R., Flores-Sáenz, J.L., Partida-Hernández, G., Lara-Lemus, A., Alarcón-Aguilar, F. 1991. Experimental study of the hypoglycemic effect of some antidiabetic plants. *Arch Med Res* 22:87–93.
- Rzonca, S.O., Suva, L.J., Gaddy, D., Montague, D.C., Lecka-Czernick, B. 2004. Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone. *Endocrinology* 145:401-406.
- Saperstein, R., Vicario, P.P., Strout, H.V., Brady, E., Slater, E.E., Greenlee, W.J., Ondeyka, D.L., Patchett, A.A., Hangauer, D.G. 1989. Design of a selective insulin receptor tyrosine kinase inhibitor and its effect on glucose uptake and metabolism in intact cells. *Biochemistry* 28:5694–5701.
- Sezik, E., Aslan, M., Yesilada, E., Ito, S. 2005. Hypoglycaemic activity of *Gentiana olivieri* and isolation of the active constituent through bioassay-directed fractionation techniques. *Life Sci* 76:1223–1238.
- Shang, W., Yang, Y., Zhou, L., Jiang, B., Jin, H., Chen, M. 2008. Ginsenoside Rb1 stimulates glucose uptake through insulin-like signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *J Endocrinol* 198:561–569.
- Sheehan, M.T. 2003. Current therapeutic options in type 2 diabetes mellitus: a practical approach. *Clin Med Res* 1:189-200.
- Shibano, M., Kakutani, K., Taniguchi, M., Yasuda, M., Baba, K. 2008. Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their α -glucosidase-inhibitory activity. *J Nat Med* 62:349–353.

- Sohn, E.J., Kim, C.S., Kim, Y.S., Jung, D.H., Jang, D.S., Lee, Y.M., Kim, J.S. 2007. Effects of magnolol (5,5'-diallyl-2,2'-dihydroxybiphenyl) on diabetic nephropathy in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Life Sci* 80:468–475.
- Spiller, H.A., Sawyer, T.S. 2006. Toxicology of oral antidiabetic medications. *Am J Health Syst Pharm* 63:929-38.
- Thong, F.S., Dugani, C.B., Klip, A. 2005. Turning signals on and off: GLUT4 traffic in the insulin-signaling highway. *Physiology (Bethesda)* 20:271-84.
- Tomiyaama, K., Nakata, H., Sasa, H., Arimura, S., Nishio, E., Watanabe, Y. 1995. Wortmannin, a specific phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, inhibits adipocytic differentiation of 3T3-L1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 212:263–269.
- Turmelle, Y.P., Shikapwashya, O., Tu, S., Hruz, P.W., Yan, Q., Rudnik, D.A. 2006. Rosiglitazone inhibits mouse liver regeneration. *FASEB J* 20:2609-2611.
- Vega-Avila, E., Espejo-Serna, A., Alarcón-Aguilar, F., Velazco-Lesama, R. 2009. Cytotoxic activity of four Mexican medicinal plants. *Proc West Pharmacol Soc* 52:78–82.
- Velazco-Macias, C.G., Foroughbakhch-Pournavab, R., Alanís-Flores, G.J., Alvarado-Vázquez, M.A. 2008. *Magnolia dealbata* in Nuevo Leon, Mexico. *Rev Mex Biodivers* 79:459–463.
- Watson, R.T., Kanzaki, M., Pessin, J.E. 2004. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocr Rev* 25:177–204.

- White, M.F. 1998. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Mol Cell Biochem* 182:3-11.
- World Health Organization. 2008. Medicina Tradicional. Nota descriptiva No. 134. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/es/index.html>
- World Health Organization. 2011. Global status report on noncommunicable diseases 2010. ISBN 978 92 4 068645 8 (PDF).
- World Health Organization. 2012. Diabetes. Nota descriptiva No. 312. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>
- Yao, Y., Cheng, X.C., Ren, G.X. 2011. Contents of D-chiro-Inositol, vitexin, and isovitexin in various varieties of mung bean and its products. *ASC* 10:1710–1715.
- Yao, Y., Cheng, X., Wang, L., Wang, S., Ren, G. 2011. A determination of potential α -glucosidase inhibitors from azuki beans (*Vigna angularis*). *Int J Mol Sci* 12:6445-6451.
- Zapata-Bustos, R., Alonso-Castro, A.J., Gómez-Sánchez, M., Salazar-Olivo, L.A. 2013. *Ibervillea sonorae* (Cucurbitaceae) induces glucose uptake in human adipocytes by activating a PI3K-independent pathway. Manuscript submitted for publication. *J Ethnopharmacol*.
- Zhang, P., Zhang, X., Brown, J., Vistisen, D., Sicree, R., Shaw, J., Nichols, G. 2010. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 87:293–301.

Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., et al. 2001. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 108: 1167-74.