

Efecto hipoglicemiante de *Azadirachta indica* A. Juss., *Phyllanthus niruri* L. y su combinación en ratas normales

Hypoglycemic effect of *Azadirachta indica* A. Juss. and *Phyllanthus niruri* L. and their combined use in normal rats

Gerardo Alberto Isea Fernández,^I Ilsen Emérita Rodríguez Rodríguez,^{II} Egar Enrique Sánchez Camarillo,^{III} Merilio Antonio Montero Urdaneta^{IV}

^I Doctor en Ciencias Veterinarias. Profesor Titular. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Ciudad Universitaria. Núcleo Agropecuario. Maracaibo. Estado del Zulia, Venezuela.

^{II} Médico Veterinario. Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura (INSOPESCA). Sub-gerencia de Sanidad Pesquera. Sector Sierra Maestra. Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras. Maracaibo. Estado del Zulia, Venezuela.

^{III} Magíster en Estadística. Cátedra de Bioestadística. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Departamento Socioeconómico. Maracaibo, Estado del Zulia, Venezuela.

^{IV} Médico Veterinario. Cátedra de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Biología Animal. Universidad del Zulia. Ciudad Universitaria. Núcleo Agropecuario. Maracaibo. Estado del Zulia, Venezuela.

RESUMEN

Introducción: en Venezuela, tanto la planta *Phyllanthus niruri* L. como *Azadirachta indica* A. Juss. se emplean empíricamente para el tratamiento de diabetes mellitus. Se consideró importante comprobar su utilidad potencial ante una situación de hiperglicemia aguda y, dados algunos efectos adversos descritos para *A. indica*, valorar posibles efectos sinérgicos con *P. niruri*, que permitan disminuir su dosis y aprovechar su acción farmacológica terapéutica.

Objetivos: valorar el efecto hipoglicemiante o antihiperglicemiante agudo de la planta entera *P. niruri*, y de su combinación con hojas de *A. indica* en ratas normales.

Métodos: se prepararon extractos acuosos de hojas de *A. indica* y planta entera de *P. niruri*, se pesaron 70 g del material vegetal que se colocaron en 200 mL de agua a 55-60 °C. Se conformaron 3 tratamientos: 2 correspondientes a cada extracto y un tercero preparado por la combinación de iguales volúmenes de los primeros. A

cada extracto y a su combinación le fue medido el contenido de glucosa, para preparar soluciones glucosadas de 13,77, 21,54 y 18,82 mmol/L, controles, respectivamente, de los tratamientos con *A. indica*, *P. niruri* y su combinación; se administraron vía oral a la dosis de 5 mL/300 g, se hizo también una comparación antes-después. La glicemia se midió antes de la administración del tratamiento y 2 h después.

Resultados: en la comparación con su control de solución glucosada, solo la combinación de los extractos disminuyó significativamente la glicemia. En la comparación antes-después todos los tratamientos disminuyeron de modo significativo la glicemia; en los controles de solución glucosada no se observó variación significativa de la glicemia.

Conclusiones: se demostró el efecto hipoglicemiante de la planta entera de *P. niruri*, que valida su uso en la medicina tradicional venezolana, y se sugiere un efecto sinérgico con hojas de *A. indica*.

Palabras clave: plantas medicinales, hipoglicemiantes, *Azadirachta indica*, *Phyllanthus niruri*.

ABSTRACT

Introduction: both *Phyllanthus niruri* L. and *Azadirachta indica* A. Juss. are used in Venezuela on an empirical basis for the treatment of diabetes mellitus. It was considered important to verify the potential usefulness to face acute hyperglycemic condition; and taken into account some adverse effects of *A. indica*, to value possible synergic effects with *P. niruri* that allow reducing the dose and taking advantage of its therapeutic pharmacological action.

Objectives: to assess the acute hypoglycemic or anti-hyperglycemic effect.

Methods: aqueous extracts from *A. indica* leaves and the *P. niruri* plant were prepared first, then 70 g of vegetal material were weighted and placed into 200 mL of water at 55-60 °C. Three courses of treatment were organized; two included each extract and the third based on the combination of equal portions of them. Each extract and the combination were measured their content of glucose in order to prepare glycoside solutions of 13.77, 21.54 and 18.82 mmol/L, which acted as controls of the therapies with *A. indica*, *P. niruri* and their combination. They were orally administered at a dose of 5 mL/300 g and compared before and after the administration. Likewise, glycemia was measured before and 2 hours after treatment.

Results: in the comparison with its glycoside solution control, only the combination of extracts significantly reduced glycemia. As to the comparison before and after the administration, all the treatments managed to decrease in a significant way glycemia; however, in glycoside solution controls, there was not remarkable variation of glycemia.

Conclusions: there was proved the hypoglycemic effect of the whole *P. niruri* plant, leading to its validation as a Venezuelan traditional medicinal plant and the synergic effect that may be achieved with *A. indica* leaves was put forward.

Key words: medicinal plants, hypoglycaemic substances, *Azadirachta indica*, *Phyllanthus niruri*.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud hace más de 20 años recomendó mayor investigación sobre el uso de plantas medicinales como tratamiento de la diabetes mellitus; el interés se ha centrado en la búsqueda de principios activos hipoglicemiantes y(o) antihiperlipemiantes.¹ Desde el punto de vista farmacológico, plantas potencialmente útiles actuarían a través de múltiples sitios diana y mecanismos de acción, lo que, por la patogenia multifactorial de la enfermedad, representa una ventaja sobre hipoglicemiantes conocidos; la combinación de principios activos de una misma planta o diferentes, con efectos farmacológicos sinérgicos, agonistas o antagonistas, pueden incrementar su eficacia y minimizar efectos adversos.²

El objetivo fue determinar en ratas normales, el efecto hipoglicemiante o antihiperlipemiante de la planta entera de *Phyllanthus niruri*, para fundamentar su uso en la medicina tradicional venezolana y determinar un posible efecto sinérgico con hojas de *Azadirachta indica*.

MÉTODOS

Se trabajó en los Laboratorios de la Cátedra de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia, ratas *Wistar*, machos, adultas normales, con un peso de 190 a 220 g, se mantuvieron en climatización durante 7 d a 25 ± 3 °C. El alimento (producto comercial) fue restringido hasta la medición de la glicemia después de la administración del tratamiento, para un tiempo total de ayuno de $17 \text{ h} \pm 10 \text{ min}$, según variación en la medición de la glicemia pretratamiento, administración del tratamiento o medición de la glicemia postratamiento. El agua (obtenida del grifo) fue restringida durante $2 \text{ h} \pm 10 \text{ min}$, desde la medición de glicemia pretratamiento hasta su medición postratamiento. Cada día, alimento y agua se dosificaron según el peso a 12 y 10 %, respectivamente. La medición de la glicemia se hizo en muestra de sangre obtenida de la vena safena,³ utilizando un glucómetro One Touch® *Ultra* de *Johnson & Johnson*,⁴ y la administración de los tratamientos se hizo mediante sonda gástrica.

El trabajo se ajustó al Código de Bioética y Bioseguridad del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología de la República Bolivariana de Venezuela (<http://www.fonacit.gov.ve/documentos/bioetica2009.pdf>, acceso 26-10-2010).⁵ Las hojas de *A. indica* y la planta entera *P. niruri* se colectaron en los municipios San Francisco y Maracaibo del estado del Zulia entre las 7 y las 9 p.m.; la identificación la realizó el profesor *Guillermo Sthormes*, curador del Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, muestra sin número de colección, herbario referencial de frutales.

En ambos casos, hojas o planta entera fresca, fueron lavadas con agua de grifo y cortadas finamente con tijera hasta completar 70 g, que en recipiente de acero inoxidable se colocaron en 200 mL de agua de grifo a temperatura entre 55 a 60 °C, durante 30 min. Luego de filtrada (papel filtro *Whatman* N° 2), la infusión obtenida se almacenó a 4 °C durante 12 h hasta su utilización, un procedimiento popularmente descrito en Venezuela para el uso medicinal de estas plantas. El contenido de glucosa de cada infusión se midió utilizando el mismo glucómetro, valor utilizado para elaborar en cada caso, una solución glucosada (glucosa D anhidra de Químicas RB y agua destilada), que sirvió como control para cada tratamiento. Se utilizó una balanza analítica de Denver Instrument Company TR-204.

Con algunas modificaciones, se siguió un diseño experimental conocido, formando 6 grupos de 10 unidades experimentales:^{1,4}

1. Tratamiento A (infusión hojas de *A. indica*).
2. Control del tratamiento A (solución glucosada, 13,77 mmol/L).
3. Tratamiento B (infusión planta entera de *P. niruri*).
4. Control del tratamiento B (solución glucosada, 21,54 mmol/L).
5. Tratamiento C (combinación a volúmenes iguales de los tratamientos A y B).
6. Control del tratamiento C (solución glucosada, 18,82 mmol/L).

Los tratamientos se administraron en volumen de 5 mL/300 g. Los porcentajes de variación de glicemia se obtuvieron mediante la fórmula siguiente:⁶

$$\% \text{ Variación de glicemia} = \frac{\text{Glicemia final} - \text{Glicemia inicial}}{\text{Glicemia inicial}} \times 100$$

Los resultados se expresaron como valor medio. La comparación se realizó por pares y se compararon los grupos 1 con 2, 3 con 4, 5 con 6, mediante la prueba t de Student para muestras independientes, que también se utilizó para comparar grupos con valores de glicemia inicial diferentes ($< 4,38$ y $\geq 4,38$ mmol/L). Mediante prueba t de Student para datos apareados se realizó una comparación antes-después para cada tratamiento. Se consideraron diferencias significativas con $p < 0,1$ y $p < 0,05$.

RESULTADOS

Solo el tratamiento C disminuyó el nivel de glicemia ($p < 0,1$) respecto de su grupo control de solución glucosada (tabla 1).

Tabla 1. Glicemia de ratas normales después de la administración oral de extractos acuosos de *Azadirachta indica*, *Phyllanthus niruri*, su combinación y correspondiente control

Grupos de tratamiento (n = 10)	Media de variación de glicemia (mmol/L) \pm DE	Valor de p*
A Extracto hojas de <i>A. indica</i>	- 0,35 \pm 0,69	0,596
A1 Glucosa 13,77 mmol/L	- 0,15 \pm 0,94	
B Extracto planta <i>P. niruri</i>	- 0,33 \pm 0,59	0,326
B1 Glucosa 21,54 mmol/L	+ 0,01 \pm 0,90	
C Combinación	- 0,52 \pm 0,69	0,065
C1 Glucosa 18,82 mmol/L	+ 0,13 \pm 0,78	

* $p < 0,1$.

En la comparación antes y después (tabla 2) los tratamientos A y B disminuyeron la glicemia ($p < 0,1$), pero la diferencia más significativa respecto del efecto hipoglicemiante se obtuvo con el tratamiento C ($p < 0,05$).

Tabla 2. Glicemia de ratas normales, antes y después de la administración oral de extractos acuosos de *Azadirachta indica*, *Phyllanthus niruri*, o su combinación, y su respectivo control de solución glucosada

Grupos de tratamiento (n=10)	Glicemia antes (mmol/L) ± DE	Glicemia después (mmol/L) ± DE	Variación (%)	Valor de p
A <i>A. indica</i> (A) A1 Glucosa 13,77 mmol/L	4,88 ± 0,93 5,66 ± 1,01	4,50 ± 0,63 5,44 ± 0,84	- 7,73 - 3,92	0,074* 0,497
B <i>P. niruri</i> (B) B1 Glucosa 21,54 mmol/L	4,38 ± 0,42 4,82 ± 1,07	4,09 ± 0,35 4,73 ± 0,78	- 6,59 - 1,84	0,089* 0,766
C Combinación (C) C1 Glucosa 18,82 mmol/L	4,41 ± 0,79 5,16 ± 1,03	3,99 ± 0,79 5,21 ± 0,81	- 9,54 + 0,86	0,032** 0,854

*p < 0,1; **p < 0,05.

Con todos los tratamientos (tabla 3) se obtuvo un descenso significativo de la glicemia (p < 0,05) en el grupo de animales con niveles de glicemia pretratamiento, superiores o iguales a 4,38 mmol/L.

Tabla 3. Efecto hipoglicemiante antes y después en ratas normales, con niveles previos de glicemia < 4,38 mmol/L o ≥ 4,38 mmol/L, tras la administración oral de los extractos acuosos preparados

Unidades experimentales (n)	Glicemia antes (mmol/L) ± DE	Glicemia después (mmol/L) ± DE	Valor de p*
Glicemia antes < 4,38 mmol/L (n=15)	4,01 ± 0,26	3,91 ± 0,62	0,475
Glicemia antes ≥ 4,38 mmol/L (n= 15)	5,10 ± 0,70	4,48 ± 0,54	0,000

* p < 0,05.

DISCUSIÓN

La administración como infusión oral de los tratamientos buscó semejar la forma en que tradicionalmente se utilizan estas plantas en Venezuela, y cómo la realizaron otros autores, incluida la dosificación en mililitros por gramos de peso.⁷ El período de 2 h para medir la glicemia postratamiento pareció apropiado, y fue escogido como en otra investigación, que señala que el efecto hipoglicemiante máximo de la glibenclamida ocurre a las 2 h;⁸ además, otros investigadores consideraron la medición de la glicemia a este tiempo, porque se alcanzaron los mayores niveles de glicemia tras administrar una solución glucosada vía oral.⁷ Al demostrar que con la administración oral de la infusión de cada planta o su combinación se administraba glucosa a los animales, se consideró correcta la incorporación de grupos control de solución glucosada, igual a lo hecho por otros investigadores.¹ El glucómetro One

Touch® *Ultra* utilizado en el ensayo se emplea en diversas áreas de investigación desde su introducción en el año 2000, incluida la medición de glicemia en ratas.⁴

En el presente ensayo la combinación a partes iguales de los extractos acuosos de *A. indica* y *P. niruri* a la dosis de 5 mL/300 g produjo una disminución significativa de la glicemia ($p < 0,1$) respecto de su grupo control de solución glucosada y también en la comparación antes-después ($p < 0,05$). Sin embargo, un extracto etanólico de *Telfairia occidentalis* Hook f. ($250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) administrado junto con una solución glucosada ($1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), no produjo variaciones significativas ($p < 0,05$) de la glicemia respecto del grupo control de solo glucosa;⁴ esos autores consideran la administración de glucosa un procedimiento de rutina en el ensayo de plantas con potencial efecto hipoglicemiante. Los resultados de la presente investigación sugieren una probable sinergia en la acción farmacológica de las plantas; en otra investigación,² la combinación de extractos etanólicos de *A. indica* y *Vernonia amygdalina* Delile, no produjo mayor disminución de la glicemia que los extractos individuales.

Eseyin y otros,⁴ al observar un incremento de la glicemia a los 45 min, cuando la solución glucosada se administró 1 h antes del extracto etanólico de semilla de *T. occidentalis*, concluyeron que no era eficaz para reducir los niveles de glicemia; sin embargo, Alarcón-Aguilar y otros,⁷ en una investigación con resultados similares, sugieren que puede haber una acción antihiperглиcemiante; efecto probablemente observado también en la presente investigación, considerando la presencia en las infusiones administradas, probable de principios hipoglicemiantes y la cierta de glucosa.

Luego de administrar dosis de $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *T. occidentalis* los autores de esa investigación⁴ observaron un incremento de la glicemia a la primera hora de 5,3 y 4,7 %, respectivamente, y concluyeron que el contenido de glucosa del extracto pudo contribuir con esos resultados. Sobre esta hipótesis puede sugerirse una mayor actividad hipoglicemiante de la planta *P. niruri*, considerando el mayor contenido de glucosa de su extracto acuoso.

El extracto etanólico de *Bridelia ndellensis* Beille ($1,50 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), también tuvo para sus autores¹ un efecto antihiperглиcemiante o hipoglicemiante (35 % a 1 h) luego de su administración simultánea con glucosa ($2,5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) a ratas no-insulinodependientes; probablemente por una inhibición de la absorción intestinal de glucosa y la estimulación del péptido 1 (GLP-1), de acción similar al glucagón, aunque no descartaron una acción estimulante sobre las células pancreáticas β . Las hipótesis planteadas por estos autores pueden asumirse también como explicación del efecto hipoglicemiante o antihiperглиcemiante agudo de los extractos acuosos de *A. indica*, *P. niruri* en la comparación antes-después, o de su combinación tanto en la comparación antes-después y con su control de solución glucosada; considerando además que se trabajó con ratas no-insulinodependientes. Sokeng y otros¹ conformaron 3 grupos experimentales: extracto de *B. ndellensis* y solución glucosada, solo glucosa (control negativo), y glibenclamida (control positivo).

En esta investigación, al dividir las unidades experimentales en dos grupos de acuerdo con su nivel inicial de glicemia, el mayor porcentaje de disminución con todas las infusiones se observó en el grupo del valor inicial más alto; investigaciones con extractos acuosos de flores de *Parthenium hysterophorus* L.⁸ y hojas de *Nauclea latifolia* Sm.⁶ mostraron una mayor disminución de la glicemia en ratas diabéticas que en ratas normales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sokeng SD, Rokeya B, Mostafa M, Nahar M, Mosihuzzaman M, Ali L, et al. Antihyperglycemic effect of *Bridelia ndellensis* ethanol extract and fractions in streptozotocin-induced diabetic rats. *African J Traditional Complementary Alternative Medicines*. 2005;2(2):94-102.
2. Ebong PE, Atangwho IJ, Eyong EU, Egbung GE. The antidiabetic efficacy of combined extracts from two continental plants: *Azadirachta indica* (A. Juss) (Neem) and *Veronia amygdalina* (Del.) (African Bitter Leaf). *American J Biochemistry Biotechnology*. 2008;4(3):239-44.
3. Hem A, Smith, AJ, Solberg P. Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guineapig, ferret and mink. *Laboratory Animals*. 1998;32:364-8.
4. Eseyin OA, Ebong P, Ekpo A, Igboasoiki A, Oforah E. Hypoglycemic effect of the seed extract of *Telfairia occidentalis* in rat. *Pakistan J Biological Sciences*. 2007;10(3):498-501.
5. Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias. Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. República Bolivariana de Venezuela. (2008). Código de Bioética y Bioseguridad. 3ra ed. Caracas. Disponible en: <http://www.fonacit.gov.ve/documentos/bioetica2009.pdf>
6. Gidado A, Ameh DA, Atawodi SE. Effect of *Nauclea latifolia* leaves aqueous extracts on blood glucosa levels of normal and alloxan-induced diabetic rats. *African J Biotechnology*. 2005;4(1):91-3.
7. Alarcón-Aguilar FJ, Banderas-Dorante T, Gutiérrez-León A, Vázquez-Carrillo L, Flóres-Saenz JL, Román-Ramos R. Study of the anti-hyperglycemic effect of antidiabetic plants in rabbits with impaired glucosa tolerante. *Proceedings Western Pharmacology Society*. 2003;46:148-52.
8. Patel VS, Chitra P, Prasanna PL, Krishnaraju V. Hypoglycemic effect of aqueous extract of *Parthenium hysterophorus* L. in normal and alloxan induced diabetic rats. *Indian J Pharmacology*. 2008;40(4):183-5.

Recibido: 25 de noviembre de 2010.

Aprobado: 2 de marzo de 2011.

Gerardo Alberto Isea Fernández. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Ciudad Universitaria. Núcleo Agropecuario. Segundo Piso. Maracaibo. Estado Zulia, Venezuela. Teléf.: 058-414-6202142. Correo electrónico: gaisea3@gmail.com