

Características fitoquímicas y toxicológicas de la semilla *Swietenia humilis* Zuccarini y su efecto hipoglucemiante

Phytochemical and toxicological characteristics of *Swietenia humilis* Zuccarini seed and its hypoglycemic effect

Zaira Yassojara Flores López¹ <https://orcid.org/0000-0003-4342-018X>

Ana Paloma Campos Díaz² <https://orcid.org/0000-0002-7230-3938>

Eldher Hissadam Quiroga Santos² <https://orcid.org/0000-0002-2365-6788>

Yamilet Gutiérrez Gaitén³ <https://orcid.org/0000-0002-8885-4849>

Eva Salas Olivet³ <https://orcid.org/0000-0002-5651-193X>

Gastón García Simón³ <https://orcid.org/0000-0002-4360-6606>

Armando Cuellar Cuellar³ <https://orcid.org/0000-0001-8118-2800>

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Bioanálisis, Unidad de Ciencias de la Salud. Xalapa, Veracruz, México.

²Universidad Tecnológica de Xicotepec de Juárez. Xicotepec de Juárez, México.

³Universidad de la Habana, Departamento de Farmacia, Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: zyglauben@hotmail.com

RESUMEN

Introducción: La semilla *Swietenia humilis* Zuccarini se conoce entre la población indígena de México como la semilla del zopilote. La forma tradicional de consumo es en infusión, contra la diabetes y como antiparasitaria. A pesar de formar parte del bagaje herbolario en México, existen pocos reportes científicos de las características fitoquímicas, toxicológicas e hipoglucemiantes de la semilla y de la forma en que se debe ingerir.

Objetivo: Comprobar la ausencia de toxicidad aguda oral del extracto acuoso de la semilla de *Swietenia humilis* Zuccarini y su efecto hipoglucemiante en ratas hembras Wistar.

Métodos: Se determinaron los parámetros farmacognósticos en la droga cruda, y se elaboró un extracto acuoso de la semilla por infusión para realizar el tamizaje fitoquímico y los análisis de toxicidad aguda oral y efecto hipoglucemiante. Se trabajó con ratas hembras Wistar adultas obtenidas del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, Cuba, y se usó metformina como control.

Resultados: Se identificaron por tamizaje fitoquímico compuestos de tipo alcaloideos y fenólicos, la administración del extracto acuoso en ratas no afectó sus procesos metabólicos y digestivos, ninguna rata presentó signos de toxicidad a lo largo del ensayo, se demuestra que el extracto acuoso posee un efecto hipoglucemiante en rata Wistar al ser comparado con metformina.

Conclusiones: Estos resultados comprueban el efecto hipoglucemiante e inocuidad de la semilla en su uso tradicional como alternativa natural en el control de la hiperglucemia.

Palabras clave: diabetes; semilla del zopilote; tóxico; hipoglucemiante.

ABSTRACT

Introduction: *Swietenia humillis* Zuccarini seed is known among the indigenous population of Mexico as “zopilote seed”, and it is traditionally consumed as against diabetes and antiparasitic infusion. Despite being part of herbalist knowledge in Mexico, there are few scientific reports of the phytochemical, toxicological and hypoglycemic characteristics of the seed and on the way it can be consumed.

Objective: To verify the absence of acute oral toxicity of aqueous extract from *Swietenia humilis* Zuccarini seed and its hypoglycemic effect in female Wistar rats.

Methods: Some pharmacognostic parameters were determined in the raw drug, and it was prepared an aqueous extract of the seed by infusion for phytochemical screening and analysis of acute oral toxicity and hypoglycemic effect. Adult female Wistar rats from the National Center for the Production of Laboratory Animals (CENPALAB, by its acronym in Spanish), Cuba, were used and metformin was used as control.

Results: Alkaloid type and phenolic compounds were identified by phytochemical screening; the administration of the aqueous extract in rats did not affect their metabolic and digestive processes, any rat showed signs of toxicity throughout the study. It is shown that the aqueous extract has a hypoglycemic effect in Wistar rats when compared with metformin.

Conclusions: These results prove the hypoglycemic effect and innocuousness of the seed in its traditional use as a natural alternative in the control of hyperglycemia.

Keywords: diabetes; “zopilote seed”; toxic; hypoglycemic.

Recibido: 23/05/2017

Aceptado: 17/04/2019

INTRODUCCIÓN

Los árboles del género *Swietenia* crecen en los bosques tropicales seco y húmedo del sur de México, en los Estados de Oaxaca, Veracruz, Tabasco, Guerrero y Yucatán, también se desarrollan en algunos países de América Central.^(1,2) Este género pertenece a la familia *Meliaceas*, que ocupa gran variedad de hábitats. Tienen una amplia distribución en los trópicos y subtrópicos, y presenta tres especies reconocidas: *Swietenia mahagoni Jacq.*, *Swietenia macrophylla King* y *Swietenia humilis Zuccarini*, sin embargo, algunos botánicos la consideran como una mera variedad de *Swietenia macrophylla*.^(3,4,5,6)

La especie *Swietenia humilis* se conoce comúnmente como el árbol del zopilote o caobilla, mide de 15 a 25 metros de altura y tiene hasta 100 cm de diámetro. Por ser un ejemplar maderable de calidad, que se utiliza mucho en la fabricación de muebles finos, lo convierte en una especie muy explotada, por lo que en la actualidad se evalúa en los apéndices del Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora^a (CITES).⁽⁷⁾

Durante siglos, la población indígena mexicana, de manera tradicional, ha usado la semilla de *S. humilis* como auxiliar en el tratamiento de las infecciones urinarias, vómito, paludismo, contra la inflamación del vaso, control de la diabetes mellitus y en contra de la amibiasis e infecciones helmínticas intestinales.⁽⁸⁾

Estudios anteriores evaluaron como seguras las propiedades toxicológicas del extracto etanólico de la semilla de *Swietenia humilis Zuccarini*.⁽⁹⁾ Sin embargo, no se ha estudiado la toxicidad del extracto acuoso por infusión de la semilla íntegra, que es como la consume la población mexicana. Teniendo en cuenta estos argumentos, el presente estudio tiene el objetivo de comprobar la ausencia de toxicidad aguda oral del extracto acuoso de la semilla de *Swietenia humilis Zuccarini* y su efecto hipoglucemiante en ratas hembras Wistar.

MÉTODOS

Material Vegetal

Se trabajó con la semilla identificada como *Swietenia aff. humillis* Zuccarini, con número de registro 20100 dentro del Herbario de la Universidad Veracruzana y conocida entre la población como semilla del zopilote. Se adquirió en el centro herbolario de la ciudad de Xalapa, y fue recolectada según las indicaciones del proveedor, en el mes de mayo de 2012 en la costa del Pacífico mexicano. Las semillas se mantuvieron en condiciones libres de humedad, a temperatura de 20-22 °C y en oscuridad hasta junio de 2012, en que se inició su estudio.

Estudios farmacognósticos

Las semillas fueron asperjadas con agua destilada para eliminar el polvo. Se dejaron secar a temperatura ambiente. Después se evaluaron algunos parámetros de calidad de la materia prima vegetal como: humedad residual, sustancias solubles en agua, sustancias solubles en etanol, cenizas totales, cenizas solubles en agua y ácido clorhídrico al 10%, de acuerdo con WHO/PHARM/ 80.502.⁽¹⁰⁾

Extracción

Se preparó un extracto acuoso por infusión de la semilla íntegra, para lo que se tuvo en cuenta la metodología de *Miranda y Cuellar*^(11,12) Se le determinó el pH, contenido de sólidos totales, índice de refracción y densidad relativa. Se le realizó un tamizaje fitoquímico general de acuerdo a lo reportado por la NRSP 309 (1992)⁽¹³⁾ y *Miranda y Cuéllar*.⁽¹¹⁾

Evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto acuoso de *S. humilis*

Modelo Animal

Se utilizaron 6 ratas Wistar hembras adultas procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, Cuba (CENPALAB). Se dividieron en 2 grupos de 3 elementos, según la metodología de la OECD (2001)⁽¹⁴⁾. Todas las ratas tenían su certificado de calidad que garantizaba su salud y que se encontraban aptas para efectuar el ensayo.

Ensayo de toxicidad aguda oral

El extracto acuoso de la semilla se concentró a sequedad por el método de secado por vapor de agua, el extracto seco se diluyó en carboximetil celulosa al 1 % en razón de 2000 mg/Kg de peso (dosis límite); a una concentración final de 200 mg/mL. El ensayo tuvo una duración de 19 días (5 días de aclimatación

y 14 de ensayo). Los animales fueron pesados previo inicio del ensayo. El primer grupo de ratas hembras recibió la dosis límite de 2000 mg/Kg, en 4 tomas por vía oral utilizando una cánula intragástrica.

Transcurridas 3 horas de la administración se colocó nuevamente la comida. Se mantuvo la observación registrando datos de manera individual varias veces durante el primer día y al menos una vez para los siguientes 13 días. Las pesadas de los animales se realizaron a los días 1, 7 y 14. Los animales fueron sacrificados el día 14, evitando, en lo posible, causarles sufrimiento. Se le revisaron los pulmones, corazón, bazo, riñones y estómago y, en caso de afectación, tomar muestras y procesarlas para su análisis histopatológico.

Estudio del efecto hipoglucemiante

Modelo animal

Se trabajó con cinco grupos de ratas, conformados, cada uno, por cinco ratas de laboratorio Wistar hembras adultas procedentes del CENPALAB (Cuba) y con una sobrecarga de glucosa al 40 %, para inducir una diabetes química.

Ensayo con metformina

El extracto acuoso de la semilla obtenido por infusión se llevó a sequedad por el método de secado por vapor de agua descrito por *Miranda y Cuellar*⁽¹²⁾. A partir del extracto seco se prepararon dos diluciones en carboximetilcelulosa, CMC, 1 %, cuyas concentraciones finales fueron de 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg respectivamente. Se preparó también una resuspensión de pulverizado de tabletas de metformina en CMC 1 %, con una concentración final de 500 mg/Kg.

Se prepararon cinco grupos de ratas para la experimentación: el grupo control (C) no tuvo tratamiento, el grupo G se administró sólo con glucosa al 40 %, el grupo M con metformina en CMC 1 % 500 mg/Kg; el grupo DI con una dilución del extracto de la semilla a 500 mg/Kg, y el grupo DII con una dilución del extracto a 1000 mg/Kg.

A los animales se les permitió comida y agua durante la aclimatación, 12 horas antes del ensayo se les retiró sólo la comida. Con la ayuda de un glucómetro marca SUMA y sus respectivas tiras reactivas, se tomaron mediciones de glucosa en sangre de todos los animales y se registraron sus valores. Al tiempo 0 se registró la glucosa en todos los grupos. Mediante una cánula intragástrica se le administraron: al

grupo G, la solución de glucosa al 40 %; al M la metformina y a los grupos DI y DII, los extractos de la semilla.

Una hora posterior a los tratamientos, se administró la solución de glucosa al 40 % a los grupos M, DI y DII, se realizaron las mediciones de glucosa y se registraron como tiempo 0^o. Después, a los 15, 30, 60 y 120 minutos de ser suministrada la glucosa, se realizaron las mediciones de sus niveles en todos los miembros de cada grupo, se registraron sus valores en una tabla de datos y se analizaron con el software estadístico Statgraphics.

RESULTADOS

La tabla 1 refleja los valores de calidad evaluados a la droga cruda de la semilla de *S. humilis*. La humedad residual presentó un valor de media de 7,00, con una desviación estándar de 0,0, lo que evidencia que la calidad del secado fue correcta.

La cantidad de cenizas totales, relacionadas con el contenido mineral de la droga cruda de la semilla, fue de una media de 2,54 con una desviación estándar de 0,1. El número de cenizas solubles en agua fue superior al de las cenizas insolubles en HCL. Las sustancias solubles en etanol 80 %, tuvieron los valores mayores con una media de 19,09.

Tabla 1 - Parámetros de calidad determinados a la droga cruda de *S. humilis*

Parámetros (%)	Resultados \bar{X}/S
humedad residual	7,00/0,0
sustancias solubles en agua	11,46/0,29
sustancias solubles en etanol 30 %	11,40/0,44
sustancias solubles en etanol 50 %	0,06
sustancias solubles en etanol 80 %	19,09/0,98
cenizas totales	2,54/0,19
cenizas solubles en agua	2,12/0,22
cenizas insolubles en HCl al 10 %	1,81/0,26

De los parámetros físico-químicos de calidad determinados al extracto acuoso (tabla 2), los valores del pH (media de 5,66) permitieron corroborar las características ácidas del extracto. Los sólidos totales, que representan el conjunto de material orgánico e inorgánico en el compuesto, se obtuvieron como media, por cada 100ml, un valor de 1,03 g de sólido, con una desviación estándar de 0,07.

Tabla 2 - Parámetros físico-químicos de calidad determinados al extracto acuoso de *S. humillis*.

Parámetros	Resultados X/S
pH	5,66/0,007
sólidos totales (%)	1,03/0,07
índice de refracción	1,3352/0,0001
densidad relativa (g/mL)	1,003/0,0007

El estudio de tamizaje fitoquímico del extracto acuoso obtenido por infusión de la semilla íntegra de *S. humilis*, demostró que el extracto es positivo a la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, alcaloides, azúcares reductores y a principios amargos, mientras que fue negativo para saponinas, y mucílagos y flavonoides (Tabla 3).

Tabla 3 - Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso obtenido por infusión de la semilla íntegra de *S. humilis*

Ensayos	Metabolitos	Resultados
Cl ₃ Fe	compuestos fenólicos y/o taninos	positivo
Dragendorff	alcaloides	positivo
Espuma	saponinas	negativo
Fehling	azúcares reductores	positivo
Mucílagos	mucílagos	negativo
Principios amargos	principios amargos	positivo
Shinoda	flavonoides	negativo

En el estudio toxicológico ningún animal presentó signos de toxicidad con la administración del extracto acuoso. Los registros de la masa de los animales a los días 1, 7 y 14 permitieron observar que había una ganancia de peso proporcional al tiempo transcurrido del ensayo. El día 14, en que fueron sacrificados se realizó una observación de los órganos internos de importancia (estómago, riñones, intestinos, bazo e hígado); no se encontró daño patológico alguno, por lo que no se procesaron histopatológicamente los tejidos.

En la tabla 4 se muestran los valores de media y desviación estándar de los niveles de glucosa en las ratas, por tratamiento en relación al tiempo. Se observan algunas diferencias en el nivel de glucosa estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,05$), por lo que se considera, que en las ratas de laboratorio la glucosa en sangre se encuentra en un rango normal de 50-135 mg/dL (valor medio de 75 mg/dL).

Tabla 4 - Niveles de glucosa expresados en mg/mL en los grupos tratados con sobrecarga de glucosa.

Grupo	Tiempo mínimo					
	0	0' (administración de glucosa)	15	30	60	120
C	84,4/10,2	86,8/2,2	90,8/5,02	94,0/3,61	96,0/2,12	87,0/10,7
G	108,0/9,44	108,0/32,2	350,6/27,2	302,2/31,7	159,4/24,15	101,6/22,85
M	99,6/11,57	87,0/11,51	198,0/23,99	122,2/13,4	108,8/12,52	89,8/28,98
DI (500 mg/mL)	106/12,8	91,6/4,98	209,4/53,16	141,6/24,5	111,4/12,03	98,6/9,76
DII (1000 mg/mL)	107,4/5,9	96,8/18,31	215,0/17,59	134,6/17,47	110,2/7,66	87,6/18,47

DISCUSIÓN

Los parámetros de calidad determinados a la droga cruda de la semilla de *Swietenia humilis* Zuccarini, comprueban que la muestra tiene la calidad requerida, de acuerdo con WHO/PHARM/ 80.502.⁽¹⁰⁾ En el tamizaje fitoquímico del extracto acuoso se detecta la presencia de los metabolitos secundarios: alcaloides, azúcares reductores, taninos de tipo pirocatecolicos, compuestos fenólicos y principios amargos. Lo que coincide con lo referido por *Castro* y otros.⁽¹⁵⁾ que plantean, que la mayoría de las especies vegetales a las que empíricamente se les atribuye un efecto hipoglucemiante comparten una composición química en la que resaltan los alcaloides, saponinas y taninos.

Unido a los resultados del tamizaje fitoquímico, se puede plantear que el extracto acuoso es inocuo por vía oral, porque no provocó daño en los órganos internos de las ratas tratadas. Estos efectos coinciden con la ingesta tradicional, durante generaciones, de la infusión de la semilla por la población indígena mexicana.

Se evidencia que el extracto acuoso de la semilla de *S. humilis* Zuccarini tiene efecto hipoglucemiante.

En los tiempos 0 y 0', ninguno de los grupos llega a sobrepasar los niveles de glucosa que se consideran como valores normales en ratas de laboratorio. Además, no existen diferencias estadísticas ni biológicas de niveles de glucosa entre los grupos.

En el tiempo 15 minutos existe diferencia estadística entre el grupo control (C) y el grupo administrado con glucosa al 40 % (G), como era de esperar. Mientras que la glucosa se elevó en los grupos administrados con la metformina en CMC 1 500 mg/Kg (M), con la dilución del extracto de la semilla a 500 mg/Kg (DI) y con la dilución del extracto a 1000 mg/Kg (DII), sin haber diferencias estadísticas entre ellos. Esto sugiere que la metformina y las diluciones del extracto actúan con efectividad similar en los organismos a los 15 minutos del ensayo, sin bajar ninguno de ellos los niveles de glucosa en este tiempo.

En el tiempo 30 minutos los grupos C y G presentan diferencias estadísticas entre ellos. En este mismo tiempo, en los grupos M, DI y DII los niveles de glucosa disminuyen sin existir diferencias estadísticas. Por lo que se plantea que las diluciones del extracto de la semilla a 500 mg/Kg (DI) y a 1000 mg/Kg (DII) son efectivas para bajar los niveles de glucosa sanguínea, como con la metformina.

En el tiempo 60 minutos los grupos C, M, DI y DII no tienen diferencias estadísticas ni biológicas entre sí; sin embargo, el grupo de la glucosa es estadística y biológicamente diferente de los demás, pues no sobrepasa el rango normal de glucosa en ratas.

En el tiempo 120 minutos los niveles de glucosa de todos los grupos disminuyeron hasta la normalidad; de este modo, no existen diferencias estadísticas ni biológicas entre los grupos estudiados.

Estos resultados demuestran, que entre los grupos que recibieron la metformina y las diluciones I y II del extracto no existen diferencias estadísticamente significativas durante el ensayo, por lo que las tres suspensiones actúan de manera muy similar disminuyendo los niveles de glucosa en las ratas (Fig.).

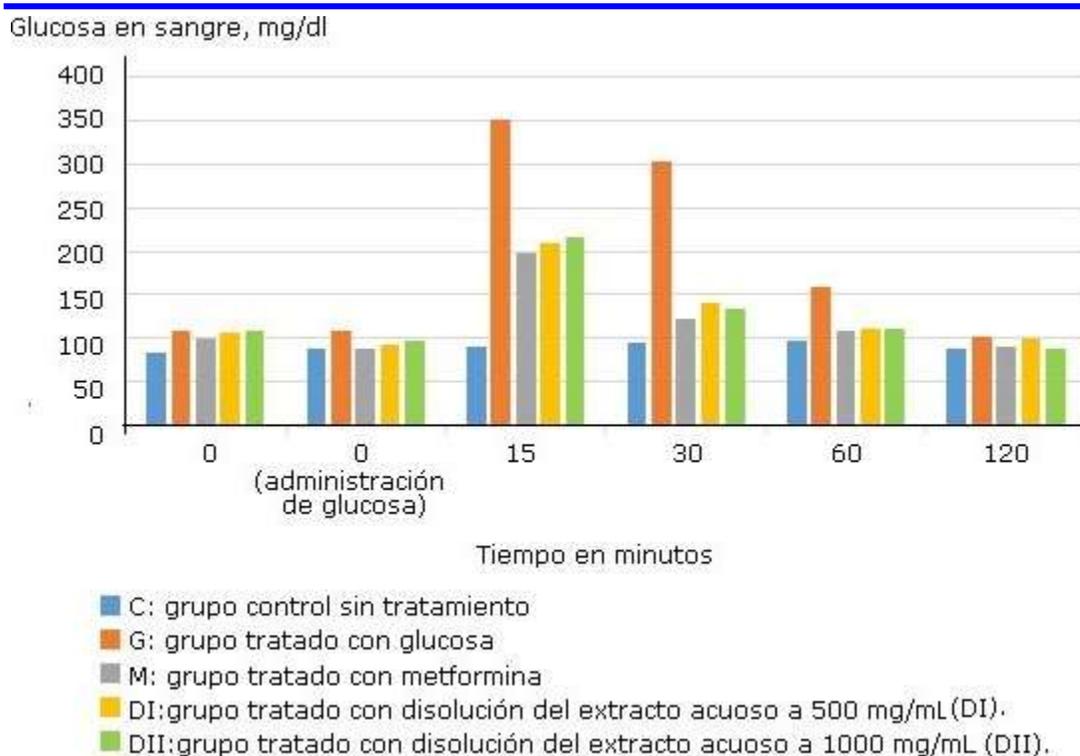


Fig. - Comparativa de los niveles de glucosa en sangre entre los grupos de ratas tratados con glucosa 40 %, metformina y extracto de *S. humilis*.

Por lo que se puede concluir, que la semilla de *Swietenia humilis* Zuccarini, con número de registro 20100, por su contenido de metabolitos alcaloides y taninos tiene la misma efectividad que la metformina para reducir los niveles de glucosa en sangre. Su consumo en forma de infusión no muestra toxicidad aguda oral, lo que explica su ingesta como remedio alternativo en contra de hiperglucemia entre la población indígena de algunos Estados de México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Méndez JM. Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Vol. 1. Costa Rica: Editorial CATIE; 2000. p.41-42.
2. Cañadas CL. Comportamiento de *Pseudoestacas* de cinco especies maderables variando dosel y época de plantación. Costa Rica: Editorial Turrialba; 1963. p. 233-235.
3. Varela CR. La familia Meliaceae en los herbarios de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. Acta Bot. Venez. Caracas. 2010;33(1):137-150.

4. Barajas MJ, León CG. Anatomía de maderas de México: Especies de una selva caducifolia. México: Editorial de la Universidad Autónoma de México; 1989. p. 124-126.
5. Patiño VF, De la Garza L, Villagómez AY, Talavera AI, Camacho MF. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. Bol. Div. Inst. Nal. Invest. For. 1983;63:181.
6. Bridgewater, S. A. Natural History of Belize: Inside the Maya Forest. Austin: University of Texas Press. USA; 2012. p. 164-65.
7. Buitrón X, Mulliken TA. El apéndice III de CITES y el comercio de la caoba (*Swietenia macrophylla*). Cambridge: Trafic International; 1997. iii, 25 p.
8. Salazar FR. Manual Técnico de *Swietenia humilis* Zucc. Costa Rica: Editorial Turrialba; 1998. p. 35-38.
9. Rico-Rodríguez L, Gómez-Flores DE, Ortiz-Butron R, Cano-Europa E, Franco-Colín M. Evaluación toxicológica y farmacológica del extracto etanólico de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc (caobilla). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2014;45(2):77-83.
10. Lou Zhi-Cen. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen Pharmacopoeias and their proposals on their international unification. WHO/. PHARM/80.502; 1980. p. 8-39.
11. Miranda MM, Cuéllar AC. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana; 2000:25-49, 74-79.
12. Miranda MM, Cuéllar AC. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana: Editorial Félix Varela; 2001 p. 261-280, 364-370.
13. Ministerio de Salud Pública. Norma Ramal NRSP No. 309. Medicamentos de origen vegetal: droga cruda. Método de ensayos. La Habana Cuba: MINSAP; 1992. p.16-29.
14. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method, Paris: Organization for Economic Co-operation and Development; 2001.
15. Castro LA, Choquesillo PF, Félix VL, Milla FH, Bell CC. Investigación de metabolitos secundarios en plantas medicinales con efecto hipoglucemiante y determinación del cromo como factor de tolerancia a la glucosa. Ciencia e investigación. 2002;I:23-29.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no existencia de conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Zaira Yassojara Flores López: Idea original y diseño de estudio, recolección e identificación de la semilla, análisis e interpretación de datos, redacción de borrador y versión final del artículo.

Ana Paloma Campos Día: Apoyo técnico y manual por el laboratorio.

Eldher Quiroga Santos: Apoyo técnico y manual por el laboratorio.

Yamilet Gutiérrez Gaitén: Desarrollo y supervisión para el efecto hipoglucemiante, análisis e interpretación de datos, redacción de borrador del artículo.

Eva Salas Olivet: Desarrollo y supervisión de pruebas fitoquímicas al extracto.

Gastón García Simón: Desarrollo y supervisión del estudio toxicológico.

Armando Cuellar Cuellar: Desarrollo y supervisión para la determinaron de parámetros farmacognósticos y preparación del extracto.

Financiación

Proyecto financiado por la Universidad Tecnológica de Xicotepec de Juárez, México, y por recursos propios para la adquisición e identificación de la semilla en el Herbario de la Facultad de Biología de la Universidad Veracruzana, México.

^aCITES (The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora), en español Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres,

“es un acuerdo internacional concertado entre los gobiernos. Tiene por finalidad velar por que el comercio internacional de especímenes de animales y plantas silvestres no constituye una amenaza para su supervivencia (...) Los niveles de explotación de algunos animales y plantas son elevados y su comercio, junto con otros factores, como la destrucción del hábitat, es capaz de mermar considerablemente sus poblaciones e incluso hacer que algunas especies estén al borde de la extinción”

Tomado de: CITES: Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora [Internet]. Ginebra, Suiza: CITES Secretariat. ¿Qué es la CITES? [acceso: 27/08/2019]. Disponible en: <https://www.cites.org/eng/disc/what.php> (N. del E.)