

Efecto del extracto etanólico del fruto de *Passiflora edulis* Sims “maracuyá” en el nivel de glicemia de ratas normales

Effect the ethanol extract of the fruit of *Passiflora edulis* Sims “maracuyá” on blood glucose level of normal rats

César Villena Nakamura¹, Jorge Arroyo Acevedo^{2,3}, Braulio Cisneros Hilario⁴, Edwin Espinoza Gutiérrez⁵, Rocío Varas Ponce⁶, Bertha Fernández Araujo⁴

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia del extracto etanólico del fruto de *Passiflora edulis* Sims “maracuyá” sobre el nivel de glicemia en ratas normales. El fruto de *P. edulis* S. fue recolectado en el valle de Chanchamayo (La Merced, Junín, Perú); 48 ratas fueron adquiridas del Instituto Nacional de Salud. La experimentación tuvo dos fases: a) en la primera, se evaluó el efecto del extracto en ratas normales, formándose dos grupos de 6 ratas, el 1° grupo recibió solución fisiológica 4 mL/kg y el 2° extracto a 250 mg/kg; b) en la segunda fase, se evaluó el efecto del extracto en ratas normales por el método del test de Tolerancia a la glucosa, según Du Vigneaud y Karr, 1925; Arroyo y Cisneros, 2012. Los seis grupos de ratas, donde recibieron :1° glucosa 500 mg/kg vía oral (G), el 2° (G) + insulina 4 UI/kg, el 3° clorpropamida 25 mg/Kg, y el 4°, 5° y 6° grupo recibieron extracto vegetal en dosis de 50, 250 y 500 mg/kg respectivamente; se extrajo sangre para medir la glicemia (mg/dL) a tiempos de 0, 0.5, 1.0 y 2.0 horas después de las administraciones. Los datos se evaluaron mediante técnicas multivariadas ($p < 0,05$). El extracto de *P. edulis* S. mantiene la glicemia dentro de los parámetros aceptables en ratas normales; al aplicar el test de tolerancia oral a la glucosa, el extracto disminuyó la glicemia en mayor porcentaje (19,2%; $p < 0.0001$) a dosis de 50 mg/kg. Se concluye que el extracto del fruto de *P. edulis* Sims disminuye los niveles de glicemia en ratas normales.

Palabras clave: *Passiflora edulis* Sims; glicemia; extracto etanólico; ratas Holtzmann.

Abstract

The present study aimed to evaluate the efficacy of the ethanol extract of the fruit of *Passiflora edulis* Sims “maracuyá” on blood glucose level in normal rats. The passion fruit was harvested in the Chanchamayo Valley (La Merced, Junín, Perú), 48 rats were purchased from the National Institute of Health. The experimentation had two phases: a) the first, was evaluated the effect of the extract in normal rats, forming two groups of 6 rats, 1° group received saline 4 ml / kg and 2° extract 250 mg/kg; b) the second phase was to assess the effect of the extract in normal rats by the method of test glucose tolerance, as Du Vigneaud and Karr, 1925; Arroyo and Cisneros, 2012., formed six groups of rats, which were: 1° glucose 500 mg / kg orally (G), 2° (G) + insulin 4 IU/kg, 3° chlorpropamide 25 mg/kg, and the 4th, 5th and 6th group received doses of plant extract 50, 250 and 500 mg/kg respectively, blood was drawn to measure blood glucose (mg/dL) at 0, 0.5, 1.0 and 2.0 hours after administration. Data were evaluated by multivariate techniques ($P < 0.05$). The passion fruit extract glycemia maintained within acceptable parameters in normal rats; applying the test of tolerance oral to glucose, the glucose decreased extract a greater percentage (19.2%, $p < 0.0001$) at a dose of 50 mg/kg. It is concluded that the extract of the fruit of *P. edulis* Sims lowers blood glucose levels in normal rats.

Keywords: *Passiflora edulis* Sim; glucose; ethanol extract; Holtzmann rats.

1 Dirección Técnica. Instituto Quimioterápico (IQFARMA). Lima-Perú, Villenanakamura@yahoo.es

2 Instituto de Investigaciones Clínicas de la Facultad de Medicina. UNMSM. Lima-Perú.

3 Facultad de Medicina. UNMSM. Lima-Perú.

4 Facultad de Medicina Humana. USP. Chimbote-Perú.

5 Unidad de Posgrado Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Lima-Perú.

6 Servicio de Farmacia, Instituto Nacional Materno Perinatal. Lima-Perú.

Recibido, 22 de febrero del 2013

Aceptado, 14 de julio del 2013

Introducción

La diabetes mellitus describe un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizada por la hiperglucemia crónica con alteraciones del metabolismo de carbohidratos, grasa y de proteínas, como resultado de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambas cosas (Unwin, 1998).

En muchos países en desarrollo, los medios de diagnóstico puede ser insuficientes, los centros de atención primaria de salud carecen de los servicios básicos de diagnóstico para detectar y clasificar a las personas que viven con diabetes o con riesgo de desarrollarla. Por esta razón, los profesionales de la salud recurren a métodos tradicionales relacionados con la presencia de signos físicos, psicológicos y sociales y los síntomas predominantes en el momento del diagnóstico (Awah, 2006).

La Diabetes Mellitus, especialmente la diabetes tipo 2 es un problema creciente de salud en África. La diabetes tiene una tasa de prevalencia ajustada por edad de entre 1-10% en las zonas rurales y urbanas (Yusuf, 2001; Dzudie, 2008). La Organización Mundial de la Salud estima que en 2000 había 7,1 millones de personas con diabetes en el África subsahariana, y que para el año 2030 la cifra habrá aumentado a 18,6 millones de dólares. La prevalencia global de la diabetes en las comunidades tradicionales africanas rurales es inferior al 1%, pero se eleva hasta alcanzar el 20% en algunos subgrupos de adultos mayores de 20 años en algunas ciudades africanas (Unwin, 1998; Tunstall, 2005). En Camerún y Tanzania, la tasa es del 5% (Aspray, 2000; Shu JA, *et al.*, 2004).

Etnofarmacológicamente, *Passiflora edulis* Sims (maracuyá) se ha utilizado de manera tradicional en diversas partes del mundo. En Portugal, el fruto de maracuyá es considerado como un estimulante digestivo y utilizado en el tratamiento del carcinoma gástrico; en la India, las hojas frescas de esta planta son hervidas en pequeña cantidad de agua y el extracto es bebido para el tratamiento de disentería e hipertensión, y los frutos son comidos para el alivio de la constipación (Jamir, 1999); en Sudamérica, se bebe la infusión de hojas y flores como sedante, la infusión de las partes aéreas se utiliza en el tratamiento de tétanos, epilepsia, insomnio e hipertensión (Desmarchelier, 2000), además se indica como relajante muscular (Brack, 1999), diurético, para tratar dolores estomacales, tumores intestinales y fiebre (NAPRALERT SM, 2001). El efecto hipoglicemiante de las plantas medicinales como es *Phyllanthus sellowianus* (Navarro, 2004), se le atribuye a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides (rutina, isoquercitrina) (Hnatyszyn, 2002), por tales motivos nos propusimos evaluar el efecto del extracto de maracuyá sobre los niveles de glicemia en ratas normales.

Material y métodos

El fruto de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá) fue recolectado en el valle de Chanchamayo, La Merced Junín, Perú. se encuentra a 751 metros sobre el nivel del mar a 75 Km al este de Huancayo y a 220 Km al noreste de Lima, la ciudad se ubica en la orilla occidental del río Chanchamayo que luego se convierte en el río Perené, un afluente del río Amazonas.

Para la preparación del extracto etanólico, las frutas de maracuyá fueron lavadas y licuadas con etanol de 96°, el que se maceró a temperatura ambiente durante 7 días con movimiento constante, posteriormente se filtró, dicho filtrado se desecó a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo obtenido fue llamado extracto etanólico del fruto de maracuyá (CYTED, 1995).

El estudio fitoquímico del extracto se realizó en los laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, al cual se le practicó, las reacciones de Dragendorff y Mayer (alcaloides), Shinoda (flavonoides), cloruro férrico (compuestos fenólicos), gelatina (taninos), ninhidrina (aminoácidos), Burtranger (quinonas) y ácido sulfúrico alfa naftol (glicósidos) (Lock de Ugaz, 1994).

Para la evaluación del efecto sobre el nivel de glicemia en ratas normales se utilizaron un total de 48 ratas albinas cepa Holtzmann machos, que fueron adquiridos del Instituto Nacional de Salud, con peso promedio de 170 ± 8 gramos de peso corporal; fueron acondicionados en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por 48 horas, con agua y alimento a libertad; con ciclo de luz oscuridad de 12 horas.

La experimentación tuvo dos fases: Primera fase consistió en evidenciar el efecto de la planta en ratas normales; para ello se tomaron doce ratas en dos grupos de seis cada uno, hubo un control con solución fisiológica 4 mL/kg; y el otro recibió el extracto a 250 mg/kg en dosis única; las sustancias fueron administradas vía intraperitoneal. Segunda fase consistió en determinar el efecto de la planta en ratas normales con carga de glucosa administrada vía oral (Test de Tolerancia a la glucosa) Según Du Vigneaud y Karr, 1925; Arroyo y Cisneros, 2012. Al aleatoriamente se formaron seis grupos de seis cada uno. 1° Glucosa 500 mg/kg vía oral (G); 2° G + Insulina 4 UI/kg; 3° Clorpropamida 25 mg/Kg; 4°, 5° y 6° extracto de maracuyá a dosis de 50, 250 y 500 mg/kg respectivamente.

Para medir los niveles de glicemia de las dos fases, se obtuvieron muestras de sangre (20 uL) del ápice de la cola, a tiempo: (cero horas), 0.5, 1.0 y 2.0 horas después de la administración de las sustancias, para medir la glicemia utilizaron cintas reactivas para glucómetro ONE TOUCH ULTRA, siendo expresado en mg/dL.

Los datos se expresaron como valor medio \pm error estándar de la media (EEM); se aplicó Anova y el análisis de múltiples comparaciones de Duncan y los valores fueron considerados estadísticamente significativos con el valor $p < 0,05$. Se usó del Programa estadístico SPSS versión 13 año 2006.

Resultados

Tabla 1: Estudio fitoquímico del extracto etanólico del fruto de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá).

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Dragendorff	Alcaloides	+
Mayer	Alcaloides	+
Shinoda	Flavonoides	+++
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
Gelatina	Taninos	++
Ninhidrina	Aminoácidos libres	+
Burtranger	Quinonas	++
Alfa naftol	Glicósidos	++

(-) = ausente; (+) poca cantidad; (++) = regular cantidad; (+++) abundante cantidad

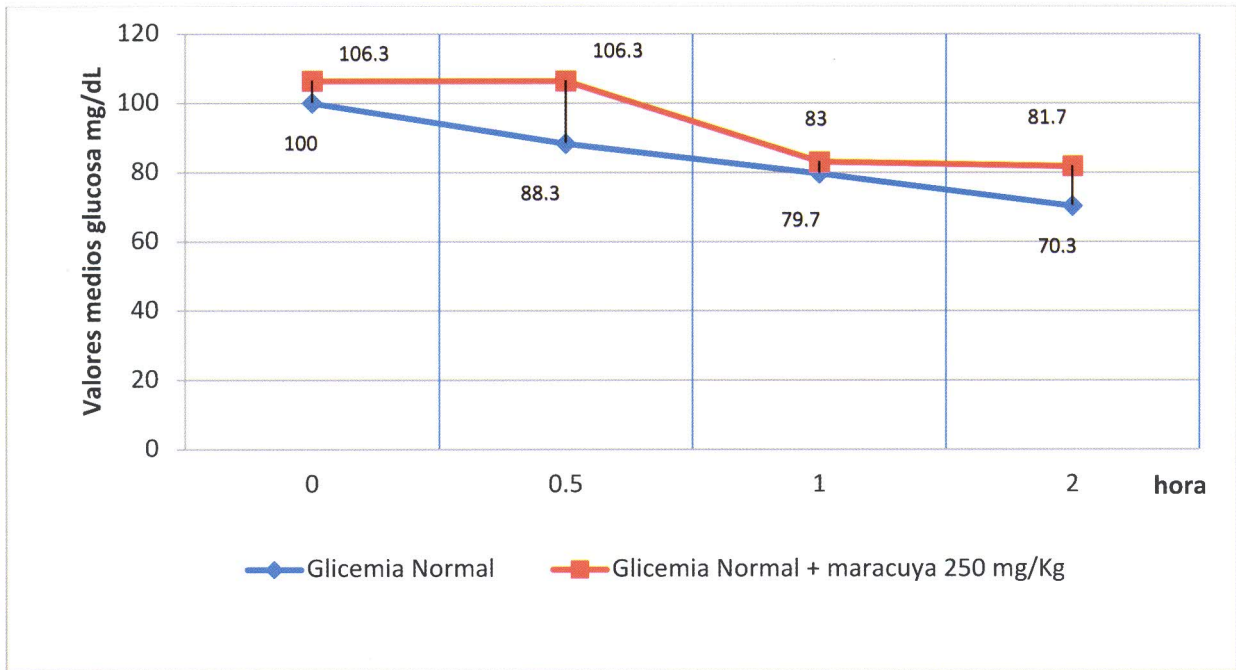


Figura 1. Nivel de glicemia en ratas normales (n = 6); p tiempo cero < 0.452; p media hora < 0.071; p una hora < 0.523; p dos horas < 0.515

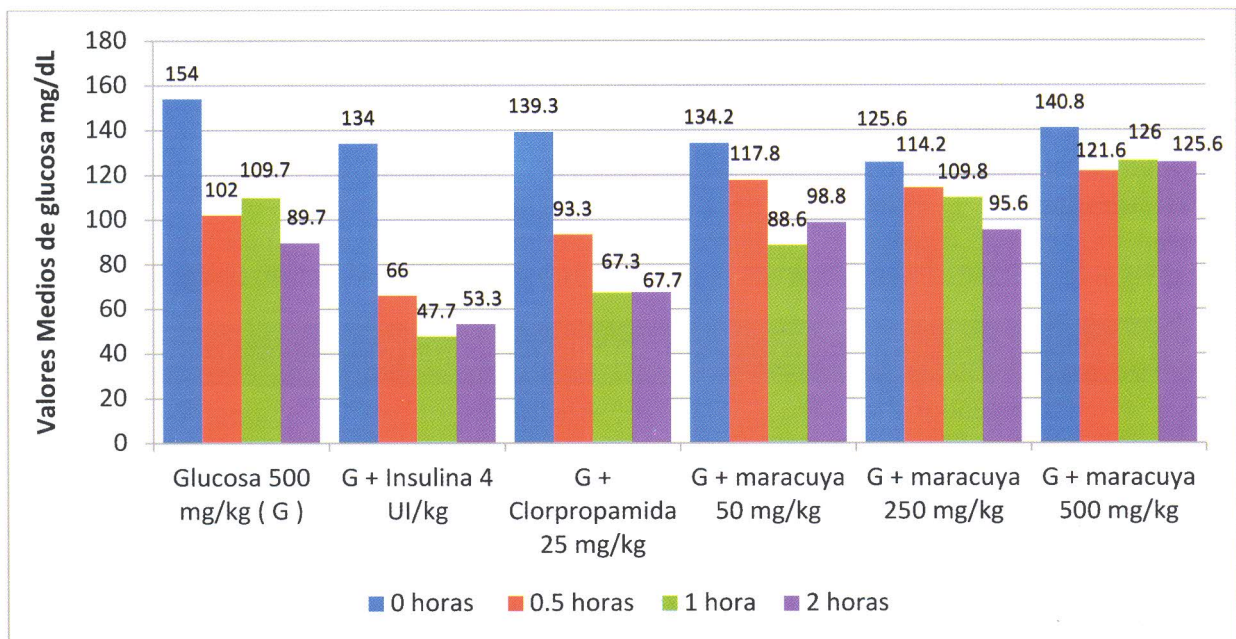


Figura 2. Valores medios de glicemia al aplicar el test de tolerancia oral a la glucosa en ratas normales; (n = 6), p tiempo cero < 0.004; p media hora < 0.0001; p una hora < 0.0001; p dos horas < 0.0001

Tabla 2. Porcentaje de efecto hipoglicemiante al medir la glicemia después de aplicar el test de tolerancia oral a la glucosa en ratas normales

Tratamiento	Porcentaje de efecto hipoglicemiante			
	0 horas	0.5 horas	1 hora	2 horas
Glucosa 500 mg/kg (G)	0	0	0	0
G + Insulina 4 UI/kg	13	35.3	56.5	40.5
G + Clorpropamida 25 mg/kg	9.5	8.5	38.6	24.5
G + maracuyá 50 mg/kg	12.9	-15.5	19.2	-10.2
G + maracuyá 250 mg/kg	18.4	-12	-0.1	-6.6
G + maracuyá 500 mg/kg	8.6	-19.2	-14.9	-40.1

n = 6. Porcentaje de efecto hipoglicemiante = ((Glucosa – Tratamiento)/Glucosa)*100); p tiempo cero < 0.004; p media hora < 0.0001; p una hora < 0.0001; p dos horas < 0.0001

Discusión

Los resultados muestran que la administración del extracto etanólico del fruto de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá) en ratas Holtzmann en distintas situaciones de glucemia permite mantener los niveles de glucosa sanguínea. Tanto en el caso de ratas normales como en aquellas con sobrecarga de glucosa (Figura 1 y 2).

Estudios fitoquímicos de *P. edulis* Sims (Passifloraceae) demuestran la presencia de glucósidos; entre ellos passiflorina (Bombardelli, 1975), glucósidos flavonoides: luteolina-6-C-chinovósido (Mareck, 1991), glucósidos cianogénicos (Seigler, 2002 ;Christensen, 2001); alcaloides (Slaytor, 1968); triterpenos y saponinas (Yoshikawa, 2000); antocianinas (Kidoy, 1997), eugenol (Chassagne, 1997), γ -lactonas, fenoles, caroteno, ácido L-ascórbico, ésteres, aceites volátiles, aminoácidos, carbohidratos, tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, calcio, hierro y fósforo (Pruthi J, 1959); lo que queda evidenciado en el estudio fitoquímico del extracto del fruto de maracuyá, donde los metabolitos presentes en mayor cantidad son los compuestos fenólicos y flavonoides (+++), en regular cantidad taninos, quinonas y glicósidos (++) y menor cantidad alcaloides y aminoácidos libres (+) (Tabla 1).

Los efectos observados podrían estar relacionados con la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides (rutina, isoquercitrina) (Hnatyszyn, 2002) como se evidencia en el estudio de Navarro del 2004 con el extracto de *Phyllanthu. Sellowianus*.

Es posible explicar la normalización postprandial de la glucemia inducida por el extracto mediante el así llamado efecto “insulin-like” observado con ciertos flavonoides (Rizvi, 2001). La prevención de la diabetes, finalmente, puede estar relacionada con la capacidad de los flavonoides de disminuir el estrés oxidativo durante el proceso de lipoxidación por radicales libres (Yokosawa. 2002). Existen, además, estudios clínicos que implican a los flavonoides en la prevención de la diabetes aludiendo a sus propiedades antiinflamatorias,

antitrombóticas, antioxidantes y anticancerígenas (Knekt, 2002; Waltner, 2001). Sin embargo, queda por comprobarse si otros constituyentes, presentes en el extracto, pueden estar involucrados en los efectos observados.

El presente trabajo aporta evidencias sobre el efecto preventivo del extracto etanólico del fruto de maracuyá a dosis de 250 mg/kg en ratas normales mantiene la glicemia dentro de los parámetros normales y con sobrecarga (test de tolerancia oral a la glucosa), se demuestra su eficacia al disminuir la glicemia en mayor porcentaje (19,2%; $p < 0.0001$) a dosis de 50 mg/kg después de una hora de administración (Tabla 2).

Los resultados obtenidos permiten certificar y avalar el uso etnomédico de esta planta medicinal frente al desencadenamiento de la patología diabética, además de ser una fuentes terapéuticas del reino vegetal constituye una alternativa viable, ya que es un recurso natural abundante en el Perú y fácilmente cultivable en la costa y la selva.

Conclusiones

Se concluye que en condiciones experimentales el extracto etanólico del fruto de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá) mantiene los valores de glicemia dentro de los parámetros aceptables en ratas normales y disminuye los niveles de glicemia en ratas normales al aplicar el test de tolerancia orla a la glucosa.

Agradecimientos

Al Instituto Quimioterápico IQFARMA por su apoyo técnico; y, al Sr Reynaldo Madrid Prado Técnico de la Sección de Farmacología de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por el cuidado y mantenimiento de los animales de experimentación en la presente investigación.

Referencias bibliográficas

- Arroyo, J., Cisneros, B. (2012). Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica. Primera Edición, Editorial Asdimor, Lima-Perú, 121-3.
- Aspray, T. J., Mugusi, F., Rashid, S., Whiting, D., Edwards, R., Alberti, K. G., Unwin, N. C. (2000). Essential Non-Communicable Disease Health Intervention Project: Rural and urban differences in diabetes prevalence in Tanzania: the role of obesity, physical inactivity and urban living. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 94(6), 637-44.
- Awah, P. (2006). *Treating diabetes in Cameroon: a comparative study in medical anthropology*. In School of Population and Health Sciences, Faculty of Medical Sciences. Newcastle University: Newcastle upon Tyne, UK, 289.
- Bombardelli, E., Bonati, A., Gabetta, B., Martinelli, E., Mustich, G. (1975). Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis*. *Phytochemistry*, 14(12), 2661-2665.
- Brack, A. (1999). Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Ed. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. Cusco-Perú, 368-370.
- Christensen, J., Jaroszewski, J. (2001). Natural glycosides containing allopyranose from the passion fruit plant circular dichroism of benzaldehyde cyanohydrin glycosides. *Org Lett*, 3(14), 2193-2195.

- Chassagne, D., Crouzet, J., Bayonove, C., Brillout, J., Baumes, R. (1997). Glycosidically bound eugenol and methyl salicylate in the fruit of edible *Passiflora* species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 2685–2689.
- Cronquist, A. (1988). The evolution and classification of flowering plants. New York: *The New York Botanical Garden*, 555.
- CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. *Manual de técnicas de investigación*, 220.
- Desmarchelier, C., Witting F. (2000). Setenta Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana. 1ª ed. Lima: Gráfica Bellido, 187-190.
- Du Vigneaud, V., Karr, W. G. (1925). Carbohydrate utilization. Rate of disappearance of D-glucose from the blood. *J Biol Chem*, 66, 281-300.
- Dzudie, A., Kengne, A. P., Mbahe, S., Menanga, A., Kenfack, M., Kingue, S. (2008). Chronic heart failure, selected risk factors and comorbidities among adults treated for hypertension in a cardiac referral hospital in Cameroon. *Eur J Heart Fail*, 10(4), 367-72.
- Hnatyszyn, O. J., Miño, Ferraro. G., Acevedo, C. (2002) *Phytomedicine*, 9, 256-9.
- Jamir, T., Sharma, H., Dolui, A. (1999). *Folklore medicinal plants of Nagaland, India. Fitoterapia*, 70, 395-401.
- Kidoy, L., Nygard, A., Andersen, O., Pedersen, A., Aksnes, D., Kiremire, B. (1997). Anthocyanins in Fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10(1), 49-54.
- Knekt, T. P., Kumpulainen, R., Jarvinen, H., Rissanen, M., Heliovaara, A., Reunanen, T. Hakulinen & Aromaa, A. (2002) *Am. J. Clin. Nutr*, 76, 560-8.
- Mareck, U., Herrmann, K., Galensa, R., Wray, V. (1991). The 6-C-chinovoside and 6-C fucoside of luteolin from *Passiflora edulis*. *Phytochemistry*, 30(10), 3486-3487.
- NAPRALERT SM. Natural Products Alert. (2001). Profile for *Passiflora edulis*. Chicago: *The board of trustees of the University of Illinois*.
- Navarro, M., Coussio, J., Hnatyszyn, O., Ferraro, G. (2004). Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de *Phyllanthus sellowianus* (“sarandí blanco”) en Ratones C57BL/Ks. *Acta Farm. Bonaerense*, 23 (4), 520-3.
- Pruthi, J., Girdhari, L. (1959). Chemical composition of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *J. Sci. Food Agric*, 10, 188-192
- Rizvi, S. I. & Zaid, M. A. (2001). *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*, 28, 776-8.
- Seigler, D., Pauli, G., Nahrstedt, A., Leen, R. (2002). Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. *Phytochemistry*. 60(8), 873-882.
- Slaytor M, McFarlane I. (1968). The biosynthesis and metabolism of harman in *Passiflora edulis*. *Phytochemistry*, 7(4), 605-611.
- Shu JA, et al., (2004). Applying the WHO STEPS approach in a resource-limited country: the Cameroon Burden of Diabetes Study. *Diabetologia*.
- Tunstall-Pedoe, H. (2005). Preventing Chronic Diseases. A Vital Investment: WHO Global Report. [http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/en] *webcite*. Geneva: World Health Organization, 200.

- Unwin, N., Alberti, G., Aspray, T., Edwards, R., Mbanya, J. C., Sobngwi, E., Mugusi, F., Rashi, S., Setel, P., Whiting, D. (1998). Economic globalisation and its effect on health. Some diseases could be eradicated for the cost of a couple of fighter planes. *Bmj*, 316(7142), 1401-2.
- Waltner-Law, M. E., Wang, B., Law, R. K., Hall, M., Nawano & Granner D. K. (2001) *J. Biol. Chem*, 277, 34933-40.
- Yokosawa, T., Kim, H.Y., Cho, E. J. & Chung, H. Y. (2002) *J. Agric. Food Chem*, 50, 5490-5.
- Yoshikawa, K., Katsuta, S., Mizumori, J., Arihara, S. (2000). Four cycloartane triterpenoids and six related saponins from *Passiflora edulis*. *J Nat Prod*, 63(9), 1229-1234.
- Yusuf, S., Reddy, S., Ounpuu, S., Anand, S. (2001). Global burden of cardiovascular diseases: Part II: variations in cardiovascular disease by specific ethnic groups and geographic regions and prevention strategies. *Circulation*, 104(23), 2855-64.