

## EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE VERBESINA ENCELIOIDES.

Toribio, M. S.<sup>1</sup>; Skliar, M.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116, General Pico (La Pampa).

<sup>2</sup>Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, Bahía Blanca (Buenos Aires).

### RESUMEN

Los seres humanos y los animales, especialmente caninos y felinos, son las especies en las que se ha diagnosticado con mayor frecuencia la Diabetes mellitus. Ante la necesidad de fuentes alternativas de drogas hipoglucemiantes y con el objeto de encontrar nuevas drogas con esta propiedad, se estudió el efecto del extracto acuoso de capítulos de *Verbesina encelioides* (Ve) sobre los niveles de glucosa sérica en ratones normales e hiperglucémicos transitorios. En ambos ensayos se sometieron a los animales a un ayuno previo de 15 horas. A diferentes grupos de ratones normales se les administró por vía oral 2, 3 y 4 g de extracto acuoso de Ve por kg de peso. Luego de 6 horas se determinó la glucemia. El grupo control sólo recibió el vehículo. Los niveles de glucosa sérica en los animales tratados con 2 y 3 g de extracto acuoso de Ve por kg de peso, fueron significativamente menores a los del grupo control ( $P<0,01$ ). La dosis de 4 g/kg resultó letal para la totalidad de los ratones. Se evaluó el efecto de la administración de 2 g de Ve por kg de peso en ratones, los que, 30 minutos después, fueron convertidos en hiperglucémicos transitorios por una dosis vía oral de 3 g de glucosa por kg de peso. El grupo control sólo recibió vehículo y glucosa. Se determinó la glucemia 1, 2, 3 y 4 horas después de la administración de glucosa. Se relacionaron estos valores con los niveles de glucemia basal. Las diferencias de las glucemias con el valor basal fueron significativamente menores en el grupo tratado que en el grupo control ( $P<0,01$ ).

**Palabras claves:** *Verbesina encelioides* – hipoglucemia – diabetes.

### Hypoglycemic effect of *Verbesina encelioides*

#### SUMMARY

Human beings and animals, specially canine and feline, are the species in which Diabetes mellitus has been more frequently diagnosed. Due to the need of finding alternative sources of hypoglycemic drugs and in order to get new drugs with this property, the effect of the aqueous extract of heads of *Verbesina encelioides* (Ve) was studied on glycemia levels in common mice and in transitory hyperglycemic once. In both assays animals were unfed for 15 hours. The different groups of common mice received an oral doses of 2, 3 and 4 g of aqueous extract of Ve per kg weight. After 6 hours glycemia was determined. The control group only received the vehicle. The glycemia levels in animals treated with 2 and 3 g/kg were significantly smaller to those of the control group ( $P<0.01$ ). The 4 g/kg dose was lethal for all mice. The effect of the administration of 2 g Ve per kg weight on mice was evaluated. After 30 minutes, each mouse received an oral dose of 3 g of glucose per kg of weight, to become transitory

hyperglycemic mice. The control group only received the vehicle and glucose. Glycemia was determined 1, 2, 3 and 4 hours after glucose was administered. These values were related to the basal glycemia levels. The differences between glycemia and basal values was significantly smaller in the group treated than in the group control ( $P < 0.01$ ).

**Key words:** *Verbesina encelioides* - hypoglycemia - diabetes.

## INTRODUCCIÓN

La hiperglucemia es un síntoma que, con cierta frecuencia, aparece en la clínica humana y veterinaria. El conjunto de trastornos metabólicos en el cual la utilización de la glucosa está alterada y produce hiperglucemia se denomina Diabetes mellitus. En el hombre esta enfermedad tiene una alta incidencia (4 a 5%) en todo el mundo. Los caninos y felinos son las especies animales en las que se ha diagnosticado más frecuentemente (Watson, 1997).

Las drogas corrientemente utilizadas para tratarla fallan en alcanzar el ideal de normoglucemia y en la prevención de las complicaciones, siendo la muerte, en muchos casos, el desenlace final de la enfermedad (Marles y Farnsworth, 1995).

Por lo expuesto, hay una clara necesidad de fuentes alternativas de drogas hipoglucemiantes orales o parenterales y también de diferentes estrategias de terapia.

Por centurias las plantas han sido usadas en la medicina folclórica para el tratamiento de la diabetes, especialmente en países del tercer mundo, existiendo más de 1.200 especies, incluidas en 725 géneros y en 183 familias. Entre estas últimas, las más comúnmente citadas en la bibliografía y que han sido usadas con ese fin son Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Euphorbiaceae y Compositae (Marles y Farnsworth, 1995). La distancia filogenética entre estos grupos de familias son un fuerte indicador de la variedad de constituyentes activos en la naturaleza que podrían ser una fuente potencial para la obtención de drogas antidiabéticas. Esto indica la importancia de los estudios fitoquímicos y farmacológicos para el descubrimiento de nuevas plantas con propiedades hipoglucemiantes.

*Verbesina encelioides* (Ve) pertenece a la familia de las Compuestas, conocida vulgarmente como "girasolillo". Se desarrolla en forma natural y abundante en casi todo el territorio pampeano. Es reconocida como maleza en todo el país y crece especialmente en las cercanías de las viviendas humanas (Cano, 1988). Se conoce el principio tóxico de esta planta y está ampliamente descripta la sintomatología y lesiones patológicas en ovinos (López et al., 1996; Keeler et al., 1986), pero está muy poco estudiada desde el punto de vista farmacológico. No es reconocida en el acervo popular como una planta medicinal. Sin embargo, en una revisión bibliográfica se menciona su actividad hipoglucemiante (Marles y Farnsworth, 1995). En la India se realizó una somera evaluación farmacológica de esta planta (Jain et al., 1988).

El objetivo de este trabajo fue demostrar que la maleza que crece en la provincia de La Pampa tiene propiedades hipoglucemiantes, debido a que no existen trabajos de referencia sobre Ve de esta región que confirmen las propiedades que se le atribuyen.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Preparación del extracto de *Verbesina encelioides*

Los capítulos de Ve se recolectaron en el mes de abril en la zona rural de General Pico, La Pampa, Argentina. Fue autenticada por el profesor P. E. Steibel, Curador del

Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa, donde un espécimen ha sido depositado (M. Toribio 1. SRFA).

Los capítulos de Ve se secaron en estufa a 35 °C durante 3 días. Al material seco, en cantidad suficiente teniendo en cuenta el peso de los ratones de cada ensayo en particular, se le agregó 200 ml de agua destilada y se llevó a ebullición durante 20 minutos (2x). Ambas extracciones se juntaron, se filtraron por papel de filtro y se llevaron a sequedad en rotavapor. Se utilizó una solución de Tween 80 al 0,05% como vehículo del extracto acuoso seco de Ve para realizar los correspondientes bioensayos.

## 2. Bioensayos

Para ambos ensayos se utilizaron ratones CF1 hembras de un peso promedio entre 35 a 45 g, a los que se sometió a un ayuno de 15 horas con agua ad-libitum. La vía de administración fue la oral en todos los casos, utilizando una sonda bucoesofágica. Las extracciones de sangre se realizaron por punción en el plexo venoso retrobulbar del ojo. Las muestras de sangre se recolectaron en capilares heparinizados e inmediatamente se centrifugaron a 1.500 rpm durante 5 minutos. Con el suero obtenido se realizaron las determinaciones de glucemia (mg/100 ml) por medio del método de la glucosa-oxidasa, obteniéndose datos estadísticos mediante el test “t” de Student (Snedecor y Cochran, 1967).

2.1. Con el objeto de determinar la dosis hipoglucemiante de los capítulos de Ve se utilizaron 40 ratones. Se dividieron al azar en 4 grupos de 10 ratones cada uno. El Grupo control (GC) recibió 1 ml de una solución de Tween 80 al 0,05%. A los tres grupos restantes se le administró 2 (GT2), 3 (GT3) y 4 (GT4) g de extracto acuoso de Ve por kg de peso respectivamente. Transcurridas 6 horas de la administración se extrajeron muestras de sangre de todos los grupos y se determinó la glucemia. Las dosis empleadas y el tiempo transcurrido entre la administración de las mismas y la extracción de sangre fueron el resultado de sendos ensayos dosis-respuesta.

2.2. Para determinar el efecto de *Verbesina encelioides* en ratones hiperglucémicos transitorios, es decir aquellos a los cuales se les provoca un aumento de la glucemia por administración de glucosa, se realizaron determinaciones de glucemia basal a todos los ratones del ensayo (n = 10). Cinco de ellos se usaron como grupo control (GC), administrándoseles 1 ml de una solución de Tween 80 al 0,05% por vía oral a cada uno y los restantes recibieron una dosis de 2 g de *Verbesina encelioides* por kg de peso (GT). Treinta minutos más tarde, se administró una dosis de glucosa de 3 g/kg vía bucoesofágica (Chen et al., 2000). Se hicieron extracciones de sangre a 1, 2, 3 y 4 horas posteriores a la administración de glucosa y se determinó la glucemia.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los efectos de 2, 3 y 4 g de extracto de Ve por kg de peso, luego de 6 horas de administrado, sobre la variación de los niveles de glucosa en suero de ratones normales, respecto en cada caso al grupo control. Los datos registrados permiten observar que los niveles de glucosa en los animales tratados con 2 y 3 g/kg fueron significativamente menores a los del grupo control ( $P < 0,01$ ) para ambos casos. La dosis de 4 g/kg resultó letal para la totalidad de los ratones, ya que, 6 horas después de la administración del extracto, algunos estaban muertos y otros agonizando.

**Tabla 1. EFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE EXTRACTO ACUOSO DE CAPÍTULOS DE *VERBESINA ENCELIOIDES* SOBRE LA VARIACIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCEMIA EN RATONES NORMALES**

Grupos	Dosis Ve (g/kg)	Glucemia (mg/100ml) promedio $\pm$ S.D.
GC <sup>a</sup>	---	117,5 $\pm$ 21,39
GT2 <sup>b</sup>	2	67,85 $\pm$ 13,83 <sup>e</sup>
GT3 <sup>c</sup>	3	81,86 $\pm$ 12,40 <sup>e</sup>
GT4 <sup>d</sup>	4	-----

<sup>a, b, c</sup> Los valores representan promedio  $\pm$  S.D. de los niveles de glucemia, luego de 6 horas de la administración del vehículo y de 2 y 3 g de Ve por kg de peso respectivamente.

<sup>d</sup> La dosis de 4 g de Ve por kg de peso provocó la muerte de la totalidad de los ratones.

<sup>e</sup> Test "t" de Student  $P < 0,01$ ,  $n = 10$ . Comparación del grupo tratado con 2 y 3 g de Ve por kg de peso respecto al grupo control.

Estos resultados se tomaron como base para el bioensayo con ratones hiperglucémicos transitorios (ver ítem 2.2. de Materiales y Métodos), donde se trabajó con la dosis de 2 g/kg, por presentar mayor margen de seguridad respecto que la de 3 g/kg (más cercana a la dosis tóxica).

En la tabla 2 se observan las diferencias entre los niveles de glucemia a 1, 2, 3 y 4 horas después de la administración de 3 g de glucosa por kg de peso y los valores iniciales de glucemia, previos a la administración del vehículo o de 2 g de extracto acuoso de Ve por kg de peso respectivamente. De la observación de los resultados se puede inferir que a 1, 2, 3 y 4 horas de la administración de glucosa, la diferencia con el valor inicial fue significativamente menor ( $P < 0,01$ ) que en el grupo control.

**Tabla 2. EFECTO DE EXTRACTO ACUOSO DE CAPÍTULOS DE *VERBESINA ENCELIOIDES* SOBRE LA VARIACIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCEMIA EN RATONES HIPERGLUCÉMICOS TRANSITORIOS**

Grupos	Diferencia de glucemia (mg/100 ml) (1 h) <sup>c</sup> promedio $\pm$ S.D.	Diferencia de glucemia (mg/100 ml) (2 h) <sup>d</sup> promedio $\pm$ S.D.	Diferencia de glucemia (mg/100) (3 h) <sup>e</sup> promedio $\pm$ S.D.	Diferencia de glucemia (mg/100) (4h) <sup>f</sup> promedio $\pm$ S.D.
GC <sup>a</sup>	194,5 $\pm$ 115,0	130,3 $\pm$ 59,53	79,24 $\pm$ 38,49	48,22 $\pm$ 23,36
GT <sup>b</sup>	19,44 $\pm$ 18,32 <sup>g</sup>	- 40,56 $\pm$ 22,50 <sup>g</sup>	- 47,06 $\pm$ 7,50 <sup>g</sup>	-51,78 $\pm$ 13,32 <sup>g</sup>

<sup>a</sup> Todos los animales recibieron una dosis de Tween 80 al 0,05% y 30 minutos después 3 g de glucosa por kg de peso.

<sup>b</sup> Todos los animales recibieron una dosis de 2 g de extracto de *Verbescina encelioides* por kg de peso y 30 minutos después 3 g de glucosa por kg de peso.

<sup>c, d, e, f</sup> Diferencia entre glucemias después de 1, 2, 3 y 4 horas de administración de 3 g de glucosa por kg de peso y glucemia basal del mismo grupo respectivamente.

<sup>g</sup> Test "t" de Student ( $P < 0,01$ ),  $n = 5$ . Comparación de las diferencias entre GT y GC de los valores de glucemia obtenidos a 1, 2, 3, y 4 horas después de la administración de 3 g de glucosa por kg de peso y la glucemia basal respectivamente.

## DISCUSIÓN

En concordancia con la dosis utilizada en conejos por Jain et al. (1988), en ratones, la dosis hipoglucemiante efectiva de Ve recolectada en la provincia de La Pampa, luego de un ayuno de 15 horas, es de 2 g de extracto acuoso de Ve por kg de peso. La dosis de 3 g/kg también resulta efectiva, siendo las diferencias muy significativas respecto al grupo control. Una dosis de 4 g/kg resultó ser letal en la totalidad de los animales ensayados, en idénticas condiciones que los otros grupos. Experiencias en ovinos demostraron que una dosis de 5 g/kg es tóxica y una dosis de 6,3 g/kg produce la muerte en animales que han permanecido en ayuno durante la noche previa al ensayo (López et al., 1996).

De los resultados obtenidos en el bioensayo con ratones hiperglucémicos transitorios, observamos que el extracto acuoso de capítulos de *Verbesina encelioides* en una dosis de 2 g/kg produce una disminución significativa entre las diferencias de glucemia obtenidas a 1, 2, 3 y 4 horas después de la administración de 3 g de glucosa por kg de peso respecto al valor inicial al compararla con el grupo control.

## BIBLIOGRAFÍA

**Cano, E.** (1988). Pastizales naturales de La Pampa. Descripción de las especies más importantes. Convenio AACREA-Provincia de La Pampa. Impreso en Argentina. Tomo I, p. 92-93.

**Chen, H.; Feng, R.; Guo, Y.; Sun, L.; Jiang, J.** (2001). Hypoglycemic effects of aqueous extract of *Rhizoma Polygonati Odorati* in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* 74: 225-229.

**Jain, S.C.; Purohit, M.; Sharma, R.** (1988). Pharmacological evaluation of *Verbesina encelioides*. *Phytotherapy Research* 2: 146-148.

**Keeler, R.F.; Johnson, A.E.; Stuart, L.D.** (1986). Toxicosis from and possible adaptation to *Galega officinalis* in sheep and the relationship to *Verbesina encelioides* toxicosis. *Vet. Human. Toxicol.* 28: 309-315.

**López, T.A.; Campero, C. M.; Chayer, R.; Cosentino, B.; Caracino, M.** (1996). Experimental toxicity of *Verbesina encelioides* in sheep and isolation of galegine. *Vet. Human. Toxicol.* 38: 417- 419.

**Marles, R.J.; Farnsworth, N.R.** (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2: 137-189.

**Snedecor, G. W.; Cochran, W. G.** (1967). *Statistical methods*. Iowa State University. Press, Ames, EE.UU., p. 120 –134.

**Watson, T.D.G.** (1997). Diabetes mellitus en el gato. *Rev. Med. Vet.* 78: 319-321.