

**Extracto de *Taraxacum officinale* (diente de león) como inhibidor del proceso de hidrólisis mediante la acción de la enzima  $\alpha$ -amilasa sobre el almidón con antecedente hipoglucemiante**

***Taraxacum officinale* (dandelion) extract as an inhibitor of the hydrolysis process through the action of the enzyme  $\alpha$ -amylase on starch**



Fuente: <https://www.turbosquid.com/3d-dandelion-plant-taraxacum-officinale-model-1550648>

Cynthia Selene Vásquez Ramos<sup>a\*</sup>, Elda Patricia Segura Ceniceros<sup>a</sup>, Anna Iliná<sup>a</sup>,  
Roberto Arredondo Valdes<sup>a</sup>, Alejandra Vargas Segura<sup>b</sup>.

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Químicas Departamento de Nano biociencia, V. Carranza s/n con José Cárdenas Valdés C.P. 25280. Saltillo Coah. México

<sup>b</sup> Facultad de Odontología, Departamento de Posgrado de Prostdoncia avanzada, Av. Dra. Cuquita Cepeda s/n Adolfo López CP.25125. Saltillo Coah. México

\* Correspondencia para autor: Cynthia Selene Vásquez Ramos  
Universidad Autónoma de Coahuila  
Correo electrónico: [cynthiavasquez@uadec.edu.mx](mailto:cynthiavasquez@uadec.edu.mx)

## Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del extracto acuoso de *Taraxacum officinale* (diente de león) sobre la actividad inhibitoria en el proceso de hidrolisis del almidón mediante la enzima  $\alpha$ -amilasa, y pruebas cualitativas de sustancias fitoquímicas para identificar los compuestos en los cuales podrían estar presentes los inhibidores. Con estas pruebas se logró identificar los componentes del extracto por familias. Se realizó el ensayo de inhibición a distintas concentraciones del extracto. Los porcentajes de inhibición obtenidos podrían ser prometedores, ya que al compararlos con el fármaco de referencia no muestra una diferencia significativa.

**Palabras clave:** *Taraxacum officinale*,  $\alpha$ -amilasa, inhibición, hipoglucemiante.

## Abstract

The objective of the present study was to evaluate the effect of the extract of *Taraxacum officinale* (dandelion) on the inhibitory activity in the process of hydrolysis of starch by the enzyme  $\alpha$ -amylase, and its phytochemical characterization qualitative tests for phytochemical compounds. Then, the main components of the extract were identified by compound families. The inhibition test is carried out at different concentrations. The inhibition percentages obtained could be promising, since when compared with the reference drug it does not show a significant difference.

**Key words:** *Taraxacum officinale*,  $\alpha$ -amylase, inhibition, hypoglycemic.

## Introducción

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos que comparten el fenotipo común de la hiperglucemia. En la actualidad se clasifica para la DM por el proceso patógeno que desencadena la hiperglucemia. La DM tipo 1 se caracteriza por la deficiencia de insulina y una tendencia a sufrir cetosis, en tanto que la DM tipo 2 es un grupo heterogéneo de trastornos que se caracteriza por grados variables de resistencia a la insulina, alteraciones en la secreción de insulina y una producción excesiva de glucosa hepática. La prevalencia de DM está aumentando rápidamente; en particular la frecuencia de DM tipo 2 está incrementando en paralelo con la epidemia de la obesidad. En las últimas dos décadas, la prevalencia mundial de DM ha aumentado más de 10 veces, de alrededor de 30 millones a más de 400 millones de casos. La DM está asociada a una morbilidad grave y una mortalidad significativa; es una causa regular de muerte en todo el mundo. (Kasper y col. 2017; Basto y col., 2020).

A partir del año 2003 según la OMS (2014), el uso de medicamentos tradicionales a base de hierbas (Andrade y col. 2008) se ha propagado en los países en desarrollo, pero también en los países industrializados como una forma complementaria de tratar y prevenir las enfermedades. Existe evidencia científica sobre inhibidores naturales de  $\alpha$ -amilasa (Ojeda y col., 2011; Rojo y col., 2007) con posibilidades de utilización en el tratamiento de la Diabetes, pues retardan la liberación de glucosa a partir de hidratos de carbono, retrasan su absorción intestinal y disminuyen la glucosa postprandial, en consecuencia, reducen la hiperglicemia. (Akshatha y col., 2014).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del extracto de *Taraxacum officinale* (diente de león) sobre la actividad inhibitoria en el proceso de hidrólisis del almidón mediante la enzima  $\alpha$ -amilasa, y su caracterización cualitativa fitoquímica para identificar los compuestos en los cuales podrían estar presentes los inhibidores.

## Materiales y Métodos

Se seleccionó a la planta *Taraxacum officinale* (diente de león) por sus antecedentes hipoglucemiantes y se compró en una casa distribuidora de plantas denominada Sanely ubicada en la ciudad de Saltillo, se le realizó una evaluación macroscópica y se determinó el porcentaje de humedad según la metodología de Nielsen (2003).

Se llevó a cabo la extracción acuosa del material vegetal colocando 4 g de material seco y pulverizado en un matraz Erlenmeyer, adicionando 100 mL de agua desionizada y en agitación por 6 horas pasado este tiempo se deja reposar por 18 horas. Posteriormente el extracto es filtrado y se transfiere a una cápsula de evaporación previamente puesta a peso constante, se seca el material a 105° C hasta llegar a peso constante.

Una vez obtenidos los extractos acuosos, se realizaron pruebas cualitativas en placa y tubo para determinar los fitoquímicos presentes mediante las siguientes reacciones: flavonoides con la técnica de Shinoda, flavonas por la prueba de ácido sulfúrico, taninos y fenoles por el método de cloruro férrico, terpenos y compuestos esteroidales por la técnica de Liberman-Burchard y sesquiterpenlactonas por la prueba de Baljet observando cambios de color siendo (+) en caso de ser positivo e indicar la presencia del fitoquímico y (-) negativo para indicar que no hubo cambio en la coloración.

La evaluación del efecto inhibitorio de la  $\alpha$ -amilasa se llevó a cabo con la siguiente metodología: a 500  $\mu$ L de una solución de almidón al 1% se le adicionaron 500  $\mu$ L del extracto obtenido a diferentes concentraciones (500, 1000, 1500 y 200 ppm) y se incubó por 10 minutos a 20° C; posteriormente se adicionan 500  $\mu$ L de la enzima  $\alpha$ -amilasa a una concentración de 102  $\mu$ g/mL<sup>-1</sup> la reacción se lleva a cabo por 3 minutos y se detiene agregando 500  $\mu$ L de 3,5-ácido dinitrosalicílico. La mezcla se lleva a ebullición en un baño por 15 minutos, posteriormente se pasa a un baño de hielo por 5 minutos; se adicionan 4 mL de agua desionizada y lee en el espectrofotómetro a 540 nm. El porcentaje de actividad remanente de la enzima se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de actividad remanente} = \frac{B - D}{A - C} * 100 \%$$

donde: B= Absorbancia de la muestra, D= Absorbancia del blanco (sin enzima), A=Absorbancia de control 1 (sin inhibidor), C=Absorbancia de control 2 (sin inhibidor y sin enzima).

Mientras que el porcentaje de inhibición se calculó de la siguiente manera (Sudha y col., 2011):

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = 100\% - \text{Porcentaje de actividad remanente de } \alpha - \text{amilasa}$$

La evaluación de la toxicidad del extracto acuoso obtenido del diente de león se realizó mediante la prueba de hemólisis en eritrocitos humanos, la cual determina la capacidad del extracto para provocar hemólisis. Se utilizaron eritrocitos humanos obtenidos por punción venosa de voluntarios adultos saludables, todas las muestras fueron recolectadas en tubos con EDTA. Posteriormente la sangre fue centrifugada a 3000 rpm por 5 min a 5 °C, el plasma contenido en el sobrenadante fue desechado y el paquete de eritrocitos se lavó con 1 ml de solución Alsever (glucosa al 2.5 %, citrato de sodio al 0.8 % y ácido cítrico al 0.055 %, disuelto en agua destilada estéril), este paso se realizó por triplicado. Una vez lavados los eritrocitos se diluyó y se expuso al extracto a diferentes concentraciones (500, 1000, 1500 y 2000 ppm) La concentración de hemoglobina en el sobrenadante fue cuantificada por la lectura de absorbancia a 415 nm y se correlacionó con una curva estándar de hemoglobina humana. Se procedió a la interpretación de datos calculando el porcentaje de hemólisis la cual revela la cantidad de hemoglobina liberada por los eritrocitos cuando están en contacto con el extracto y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Porcentaje de hemólisis} = \frac{(A_e - A_c)}{(A_{c+} - A_c)} \times 100 \%$$

donde  $A_e$  corresponde a la absorbancia experimental,  $A_c$  es la absorbancia del control negativo y  $A_{c+}$  es la absorbancia del control positivo (Merchant y col., 2009).

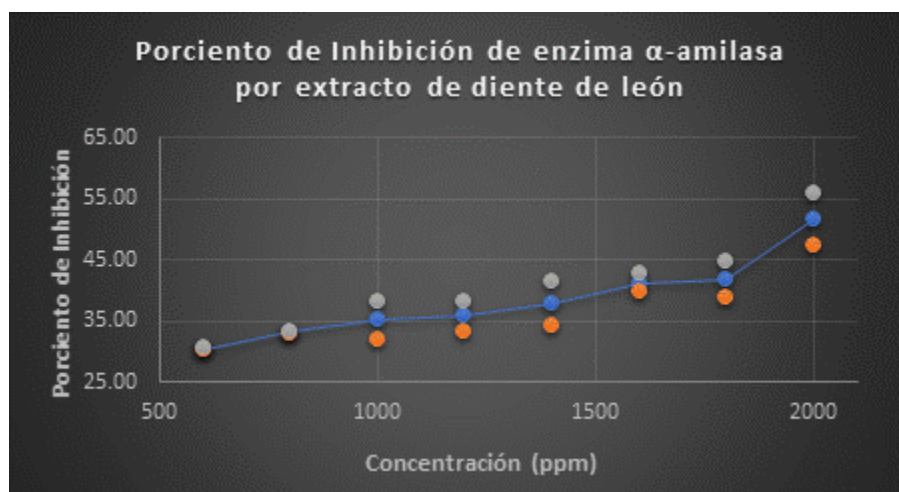
## Resultados y Discusión

En el presente trabajo se logró obtener un rendimiento de  $(29.1 \pm 0.86) \%$  de los extractos acuosos de diente de león siendo un rendimiento menor al reportado por Benítez (2019) donde obtuvieron rendimientos de 37.0% en extractos etanólicos de la misma planta, teniendo como ventaja la extracción realizada en el presente trabajo usando agua como solvente lo que hace el procedimiento amigable con el medio ambiente.

En la **Tabla 1** se observa la caracterización cualitativa de los extractos acuosos obtenidos del diente de león, siendo las pruebas positivas para la presencia de una amplia gama de fitoquímicos, siendo las sesquiterpenlactonas los más importantes ya que son las sustancias a las que se les atribuye el efecto hipoglucemiente por un efecto inhibitorio sobre la enzima  $\alpha$ -amilasa.

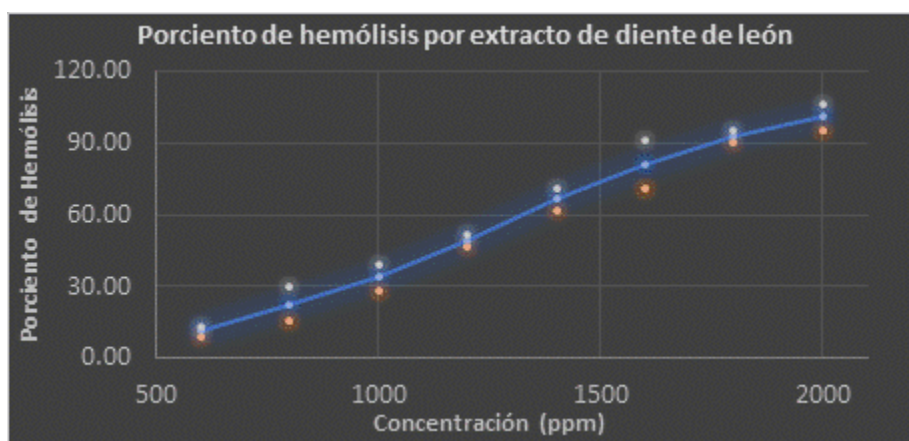
**Tabla 1.** Grupos químicos detectados cualitativamente.

Planta	Condiciones de extracción	Flavonoides	Flavonas	Taninos	Terpenos	Compuestos esteroidales	Sesquiterpenlactonas
<i>Taraxacum officinale</i>	acuoso	+	+	+	+	+	+



**Figura 1.** Porcentaje de inhibición de de  $\alpha$ -amilasa por diferentes concentraciones de extracto acuoso de diente de león.

En la **Figura 1** se puede observar que al ir aumentando la concentración del extracto de diente de león se tiene una relación lineal de manera que el % de inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa igual aumenta, teniendo un 50.0% de inhibición al usar una solución al 2000 ppm del extracto.



**Figura 2.** Porcentaje de hemólisis de eritrocitos humanos a diferentes concentraciones de extracto acuoso de diente de león.

En la **Figura 2** se presenta el porcentaje de hemólisis de los extractos acuosos, observando un porcentaje de hemólisis de superior a 90 % en concentraciones de 2000 ppm lo que podría indicar que estos extractos no son tóxicos ya que se requiere de concentraciones altas para que se lleve a cabo la hemólisis de los eritrocitos.

## Conclusiones

Se observa la presencia de una gran cantidad de fitoquímicos entre ellos principalmente los flavonoles y las sesquiterpenlactonas responsables del efecto inhibitorio sobre la enzima  $\alpha$ -amilasa. A una concentración de extracto de 2000 ppm se observa un 90 % de hemólisis de eritrocitos lo que indica que a esta concentración los extractos del diente de león pueden presentar toxicidad. Los extractos acuosos obtenidos presentan un 50% de inhibición sobre la enzima, esto podría ser prometedor como una alternativa en el control de pacientes diabéticos.

## Referencias

- Akshatha, V.J., Nalini, M.S., D'Souza, C., Prakash, H.S. 2014 Streptomycete Endophytes from Anti-Diabetic Medicinal Plants of the Western Ghats Inhibit  $\alpha$ -Amylase and Promote Glucose Uptake. *Letters in Applied Microbiology*, 58: 433-439. <https://doi.org/10.1111/lam.12209>
- Andrade-Cetto, A., Heinrich, M. 2008. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 325-348.

Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pérez-Pacheco, N. O., Álvarez-Sandoval, J. H., Giraldo-Aristizabal, C. I. 2019. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas (Universidad Militar Nueva Granada)*, 15: 31-40. DOI: <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>

Basto-Abreu, A., Barrientos-Gutiérrez, T., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., López-Olmedo, N., De la Cruz-Góngora, V., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Romero-Martínez, M., Barquera, S., López-Ridaura, R., Hernández-Ávila, M., Villalpando, S. 2020. Prevalencia de diabetes y descontrol glucémico en México: resultados de la Ensanut 2016. *Salud Pública de México*. 62: 50-58. DOI: <https://doi.org/10.21149/10752>

Kasper, D. L., Fauci, A. S., House, S. L., Longo, D. L., Jameson, L., Loscalzo, J. 2017. *Harrison: Principios de Medicina Interna*. (19a edición). México: McGraw-Hill.

INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2021. Características de las defunciones registradas en México durante enero a agosto de 2020. Disponible en: [https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020\\_Pnles.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020_Pnles.pdf). Fecha de consulta: junio de 2021.

Merchant, A., Vatanparast, H., Barlas, S., Dehghan, M., Shah, S., De Koning, L., Steck, S. 2009. Carbohydrate intake and overweight and obesity among healthy adults. *J. Am. Diet Assoc.* 109: 1165-72. doi: 10.1016/j.jada.2009.04.002.

Nielsen, S. "Food Analysis", Ed. Kluwer Academic/Plenum Publ, 2003.

Ojeda, R. S, Guerrero, O. T. & Jaramillo, F. X. 2011. Inhibición de la actividad de  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa a partir de los extractos de plantas de justicia colorata (Nees) Wassh (insulina), *Artocarpus altilis* (parkinson) Fosberg (Fruto del pan) y *Adiantum poiretti* (culantrillo). *Planta de productos Naturales*. Universidad Técnica de Loja.

OMS, Organización Mundial de la Salud. 2014. Panorama mundial de la Diabetes Ginebra, Suiza, en WHO publications. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Fecha de consulta: junio de 2021.

Rojo-Rubio, R., Mendoza-Martínez, G. D., Montañez-Valdez, O. D., Rebollar-Rebollar, O. D., Cardoso-Jiménez, D., Hernández-Martínez, J., González-Razo, F. J. 2007. Enzimas amilolíticas en la alimentación de rumiantes. *Universidad y Ciencia*. 22: 173-182.

Sigma. 2003. Sigma quality control test procedure. Enzymatic Assay of  $\alpha$ -amylase inhibitor. Saint Louis, Missouri. SSSTAR07.

Sudha, S., Karthic, R., Naveen., Rengarmanujam, J., 2011. Anti-hyperlipidemic activity of *Spirulina platensis* in Triton X-100 Induced Hyperlipidemic Rats. *Journal For Drugs and Medicines*, 3: 32-37