

Aislamiento de componentes y efecto hipoglicemiante del extracto metanólico de albahaca (*Ocimum basilicum*), en ratas C57bl/6 con hiperglicemia experimental

(Isolation of components and hypoglycemic effect of methanolic basil extract (*ocimum basilicum*) in C57bl/6 rats with experimental hyperglycemia)

Manuel Alejandro Meléndez- Jimenez,^{1,2} Ángel Raúl Rivero- Cuevas,¹ Isis Helga Vivas- Pivat³ y Gustavo Adolfo Naylander- Lugo¹

Resumen

Antecedentes: la albahaca (*Ocimum basilicum*) es una hierba perteneciente a la familia laminaceae, caracterizada por sus bondades medicinales. Se ha referido su uso en la terapéutica del cáncer, vitíligo, hipercolesterolemia y la diabetes *mellitus*.

Objetivo: evaluar el efecto hipoglicemiante del extracto metanólico de la albahaca, su aislamiento y purificación de sus principales compuestos.

Métodos: las hojas y tallos fueron colectadas en el sector la Hechicera, estado Mérida, Venezuela. Las muestras se maceraron en 20L de metanol al 70% v/v, dosificándose a dosis crecientes entre 1,0 y 2,0 g/kg, usando como modelo experimental, ratas macho de la cepa C57BL/6, con hiperglicemia inducida con aloxano monohidratado. Se incluyó un control positivo usando como agente hipoglicemiante la sitagliptina (400µg/kg). El extracto se sometió a fraccionamiento mediante cromatografía de columna abierta, cuyas fracciones (175 ml cada una) se asociaron por similitud estructural y fueron dosificadas a la población en estudio. Se obtuvieron muestras sanguíneas seriadas de la vena de la base de la cola y se procesaron siguiendo el método de la glucosa oxidasa-peroxidasa.

Resultados: se demostró una disminución de la concentración de glucosa sanguínea a la dosis de 2,0 g/kg (<120 mg/dL). Los análisis estructurales se realizaron mediante pruebas cromatográficas, espectroscópicas, espectrométricas y químicas. Del estudio se aislaron e identificaron los siguientes compuestos: nandecilato de metilo (C₂₀O₂H₄₀); behenato de metilo (C₂₃O₂H₄₆) hexacosanoato de metilo (C₂₇O₂H₅₄), así como 18-metoxicarbonil-3,4-didehidroibogamina, el flavonoide 5,7,3'-trihydroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona, los cuales son reportados por primera vez en los análisis fitoquímicos para *O. basilicum*.

Conclusión: estos hallazgos sustentan el potencial uso de la albahaca como alternativa considerable en el tratamiento hipoglicemiante.

Descriptores: diabetes *mellitus*, hiperglicemia, ratas, hipoglicémico, medicina natural, farmacología

Abstract

Background: Basil (*Ocimum basilicum*) is an herb belonging to the family laminaceae, characterized by its medicinal benefits. Its use has been referred for the treatment of cancer, vitiligo, hypercholesterolemia, and diabetes mellitus.

Afiliación de los autores:

¹Pregrado de Ciencias Veterinarias;

²Catedra de Nutrición Animal;

³Cátedra de Estadística. Facultad

de Ciencias Veterinarias,

Universidad Central de Venezuela,

Maracay, estado Aragua, 2101,

Venezuela.

Conflicto de interés: los autores

cumplimos nuestra conformidad

de envío para revisión y arbitraje,

y declaramos no tener ningún

conflicto de interés con el presente

trabajo.

✉melendezmanuel@gmail.com

Objective: to evaluate the hypoglycemic effect of the methanol extract of basil, isolation and purification of its main compounds.

Methods: The leaves and stems were collected in the sector La Hechicera, Mérida, Venezuela State. Samples were macerated in 20L of methanol to 70% v/v, dosing to increased doses between 1.0 and 2.0 g/kg, using as experimental model, male rats of the C57BL/6 strain with hyperglycemia induced with alloxan monohydrate. A positive control was included using as a hypoglycemic agent sitagliptin (400 µg/kg). The extract was submitted to fractionation by open column chromatography, whose fractions (175 ml each) were partitioned by structural similarity and were dosed to the population under study. Serial blood samples from the base of the tail vein were obtained and were processed using the method of the glucose oxidase-peroxidase.

Results: they showed a decrease of the concentration of blood glucose at a dose of 2.0 g/kg (< 120 mg/dL). Structural analyses were conducted using chromatographic, spectroscopic, spectrometric and chemical tests. They were isolated from the study and the following compounds were identified: nandecilate of methyl (C₂₀O₂H₄₀); methyl behenate (C₂₃O₂H₄₆), methyl hexacosanoate (C₂₇O₂H₅₄) as well as 18-methoxycarbonyl-3, 4-didehidroibogamina, 5,7,3'-trihydroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona flavonoid, which are reported for the first time in the phytochemical analysis for *O. basilicum*.

Conclusion: These findings support the potential use of Basil as a weed of traditional medicine in the hypoglycemic treatment.

Keywords: Mellitus diabetes; hyperglycemia, rats, hypoglycemic; natural medicine, pharmacology.

Fecha recibido: 01 de enero 2017

Fecha aprobado: 09 de marzo 2017

La albahaca (*Ocimum basilicum*) es una *laminaceae* de crecimiento bajo (entre 30-130 cm), con hojas dentadas y de textura sedosa, que mide de 3 a 11 cm de largo, por 1 a 6 cm de ancho.¹ Es un cultivo de importancia económica global, con una producción mundial anual de 100 tipos de aceites esenciales.^{2,3} Al mismo tiempo, constituye parte de los registros etnobotánicos de países como Venezuela.^{4,5} Ha sido objeto de estudio en consideración a sus posibles efectos curativos: la albahaca, llamada popularmente en el Caribe como basil y basilik, es muy utilizada en medicina tradicional para curar afecciones gastrointestinales (diarreas, parasitismo), respiratorias (bronquitis, tos), dolor de oídos y reumatismo. Tópicamente, es usada en baños y cataplasmas para tratar afecciones de la piel.² Sus componentes químicos han sido estudiados en varias ocasiones y entre ellos se han encontrado las siguientes sustancias: alfa pineno, beta-pineno, 1,8- cineol, linalol, camfor, metil chavicol (estragol), metil (Z)-cinamato, eugenol, beta-elemeno, metil (E)-cinamato, beta-cariofileno, beta-cubebeno, beta-bisaboleno y alfa-murolol.⁶ Se le atribuyen propiedades antisépticas, antiinflamatorias, antiespasmódicas, analgésicas,⁷ relajantes,⁸ antimicrobianas y antivirales.^{9,10} El objetivo general de esta investigación fue aislar mediante cromatografía y espectroscopía, algunos componentes de esta especie vegetal, y evaluar el efecto hipoglicemiente de su extracto.

Métodos

Reactivos

Los reactivos de grado analítico se adquirieron en la casa Sigma-Aldrich, y corresponden a los siguientes: hipoclorito de

sodio al 0,3%, metanol, hidróxido de potasio, ácido sulfúrico, ninhidrina, ácido bórico al 10%, ácido oxálico al 10%, anisaldehído, amoníaco, n-propanol, tolueno, ácido ascórbico, cloroformo, hexano, acetona, etanodiol, etanol, tolueno, diclorometano y sulfato de magnesio. Se usó también agua desprovista de iones, agua destilada.

Material vegetal

Las hojas y tallos de albahaca fueron adquiridos durante febrero de 2011, en la Fundación Jardín Botánico de Mérida, sector la Hechicera, estado Mérida, Venezuela. La clasificación taxonómica fue realizada por esta misma fundación.

Extracto metanólico de albahaca

Las hojas y tallos fueron lavados con agua destilada y desinfectados sin agitar, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,3% v/v. Se sometieron 15 kg de las muestras vegetales a un proceso de maceración en fresco en 20L de metanol al 70% v/v, y se colocaron en un frasco ámbar.¹¹ El macerado se concentró y se sometió al vacío, obteniéndose 139,56g de un extracto de color oscuro, el cual se empleó para los análisis cromatográficos y la administración a los animales, para evaluar su efecto hipoglicemiente.

Estudio, purificación y caracterización de compuestos

Se pesaron 20 g del extracto seco de albahaca y se disolvió en metanol; después se concentró el volumen de la solución por un rotavapor (Yamato análogo, TSRE300AW, reactivos y equipo S.A

Cuadro 1. Distribución de fases móviles y reveladores cromatográficos, según los metabolitos estudiados		
Componentes	Fases móviles	Reveladores
Antraquinonas y cumarinas	Acetato de etilo: metanol: agua (10:1:5)	Solución etanólica de KOH 10%, Solución de ácido bórico 8% y Solución de ácido oxálico 10% (2:1)
Alcaloides	Cloroformo: metanol: amoniaco (4: 1: 0: 1)	Reactivo de Dragendorff. Solución ácido sulfúrico 10%
Aminoácidos y aminas	n-propanol: acetato de etilo: agua: ácido acético (4:3:2:1)	Ninhidrina
Azúcares y oligosacáridos	n-propanol: acetato de etilo: agua: ácido acético (4:3:2:1)	A- naphtoil-ácido sulfúrico
Flavonoides	Tolueno: acetato de etilo: acetona: ácido fórmico (5:2:2:1); cloroformo: metanol: amoniaco (4:1:0:1)	Solución de ácido bórico 10% y solución de ácido oxálico 10% (2:1)
Glucósidos terpénicos	Cloroformo: metanol: amoniaco (4:1:0:1); n-butanol: etanodiol: amoniaco: agua (7: 2: 2: 3)	Anisaldehído - ácido sulfúrico
Terpenos	Tolueno: acetato de etilo (95:5)	Anisaldehído: ácido sulfúrico

de CV, México) durante 30 min, hasta obtener 2mL, de los cuales se tomaron alícuotas de 10µL de cada muestra y se aplicaron a las placas cromatográficas (marca Merck)^{12,13} con las distintas fases móviles, según el metabolito por identificar (Cuadro 1).

Se llevó a cabo la caracterización de los principales compuestos obtenidos en el estudio fitoquímico mediante espectrofotometría, utilizando dos espectrómetros: el Milton Roy Spectronic 1201 y el Perkin Elmer 599. Los espectros se obtuvieron mediante un equipo avance DRX Bruker 300 Mhz con *software*: Iris 6.5, xwinmr 3.0. (2000). Las formas estructurales de los compuestos se verificaron empleando un programa de computación comercial ChemDraw, versión 12.0 (Addlink *software* científico, Madrid, 2012).

Fraccionamiento biodirigido

Una parte del extracto metanólico se sometió a fraccionamiento primario por cromatografía de columna abierta.⁷ Se obtuvo un total de 21 fracciones con un volumen de 175 ml cada una, las cuales se asociaron por similitud cromatográfica, obteniéndose 5 fracciones, que se destinaron a las pruebas de hipoglucemia en un modelo experimental de ratas hiperglicémicas. En el Cuadro 2 se muestra el número de fracciones, sus combinaciones y el rendimiento de estas, expresado en gramos.

Animales experimentales

Los protocolos aplicados se diseñaron siguiendo las buenas prácticas de manejo y empleo de animales de laboratorio.^{14,15}

Se emplearon 44 ratas macho de la cepa C57BL/6, las cuales fueron adquiridas en el Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Los pesos de las ratas oscilaron entre 300 y 370 g. Previo a la realización del experimento, la ratas fueron colocadas en jaulas individuales y se les sometió a una temperatura de entre 21-22°C, en condiciones de ciclo claro/oscuras de 12 h.^{13,16} Se les suministró una dieta comercial granulada (Protinal®) y la ingesta de agua fue *ad libitum*.

Inducción experimental de la diabetes y cuantificación de la glucosa “in vivo”

A las ratas se les administró, a través de la vena coccígea, una solución de aloxano monohidratado al 10% (v/v), en dosis única de 160mg/kg de peso corporal durante 5 días, diagnosticándose hiperglicemia cuando la concentración de glucosa sanguínea fuese >180mg/dL. Se evaluó la glicemia a partir de muestras seriadas tomadas de la vena lateral de la cola, y la sangre se procesó con bandas reactivas para análisis, utilizando un glucómetro (Optium Xceed, Abbott).

Protocolo experimental

Se utilizaron 44 animales, los cuales fueron subdivididos en 11 grupos, a saber: Grupo I (control): cuatro ratas a las cuales se les suministró 1 mL de solución fisiológica de NaCl + dextrosa, ambas al 0,45% v/v; Grupo II: cuatro ratas: 160 mg/kg de aloxano monohidratado (AM) por kilogramo de peso corporal (PC); Grupo III: cuatro ratas: 160 mg/kg peso corporal de aloxano monohidratado + 400 µg/kg peso corporal de sitagliptina®;

Cuadro 2. Fraccionamiento primario del extracto, proporción, número de fracciones y combinaciones y rendimiento de estas*				
Eluyente	Proporción (v/v)	Nº Fracción	Combinación	Rendimiento (g)
HEXANO	100	1 – 7	F1 (1-3)	2,53
HEXANO: CHCl ₃	(94:6)	8 – 9	F2 (4-6)	3,10
HEXANO: CHCl ₃	(92:8)	10 - 13	F3 (7-15)	6,99
HEXANO: CHCl ₃	(79:21)	14 - 17	F4 (16-18)	5,78
HEXANO: CHCl ₃	(70:30)	18 - 21	F5 (19-21)	4,91
*El rendimiento de las fracciones se expresa en gramos (g).				

Grupo IV: cuatro ratas: 160 mg/kg peso corporal de aloxano monohidratado (AM) + 1,0 g/kg de PC del extracto metanólico de albahaca (EMA); Grupo V: cuatro ratas: 160mg/kg PC de AM + 1,5 g/kg PC del extracto metanólico de albahaca; Grupo VI: cuatro ratas: 160 mg/kg PC de AM + 2,0g/kg PC del extracto metanólico de albahaca; Grupo VII: cuatro ratas: 160 mg/kg PC de AM + 200 mg/kg PC de la fracción 1; Grupo VIII: cuatro ratas : 160 mg/kg PC de AM+ 200 mg/kg PC de la fracción 2 ; Grupo IX: cuatro ratas: 160 mg/kg PC de AM + 200 mg/kg PC de la fracción3; Grupo X: cuatro ratas: 160 mg/kg PC de AM + 200 mg/kg PC de la fracción 4; Grupo XI: cuatro ratas:160 mg/kg PC deAM + 200 mg/kg PC de la fracción 5. El Cuadro 3 muestra la distribución de los grupos. Todos los tratamientos fueron aplicados por vía intraperitoneal y los correspondientes a los grupos II al XI fueron disueltos en polisorbato sódico 80. (Tween 80) al 5% v/v en agua destilada. La frecuencia de administración fue cada 24 h durante 5d.

Análisis estadístico

Los valores obtenidos fueron expresados como la media (χ) \pm el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico de los datos obtenidos y la interpretación de las diferencias se realizaron mediante una prueba descriptiva general de la variable concentración plasmática de glucosa por grupo (tratamiento), utilizándose para ello la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa para aquellos valores que tuvieron una probabilidad menor o igual a 0,05 ($P \leq 0,05$). El paquete estadístico usado fue el Statistix 8.0 de ambiente Windows (2011).

Resultados

Estudio fitoquímico

El estudio fitoquímico cualitativo realizado, permitió determinar la presencia de ciertos grupos funcionales de compuestos, los cuales se resumen en el Cuadro 4.

Caracterización de los compuestos aislados en el estudio fitoquímico

En el espectro de RMN-1H se estimaron señales para hidrógenos a δ H=4,13 (1H, dd, H-1a), 4,11 (1H, dd, H-1b),

3,87 (1H, m, H-2), y 3,66 (1H, dd, H- 3a), 3,59 (1H, dd, H-3b), y carbonos a δ C C =55,1 (C-1), 69,1 (C-2), y 63,3 (C-3), los cuales coinciden con las composición estructural de 1-monoglicérido, facilitando la identificación al sistema de glicerol, según la bibliografía (Kawagishi *et al.*, 2002; Konishi *et al.*, 2004). La cromatografía acoplada a espectrometría de masas permitió determinar tres espectros con los iones moleculares: 312 *M/Z*; 354 *M/Z* y 410 *M/Z*, siendo: nandecilato de metilo, (C₂₀O₂H₄₀), behenato de metilo (C₂₃O₂H₄₆), y hexacosanoato de metilo (C₂₇O₂H₅₄), respectivamente.

También se determinó la presencia de un alcaloide indólico: la didehidroibogamina (18-metoxicarbonil-3,4), un compuesto incoloro que corresponde al metil-benzeno (monoterpeno:1-isopropil-4), y el flavonoidetrimetoxiflavona (5, 7,3'-trihidroxi-3, 6, 4).

Los compuestos mencionados, exceptometil-benzeno, son reportados por primera vez para la especie vegetal *Ocimum basilicum*. Las figuras 1, 2 y 3 muestran las respectivas estructuras químicas.

Efectos producidos por la administración del extracto metanólico de la albahaca y sus fracciones sobre la glicemia

En el Cuadro 5 se muestra el efecto hipoglicemiente generado tras la administración intraperitoneal del extracto metanólico de albahaca y las cinco fracciones asociadas por similitud cromatográfica en ratas hiperglicémicas. Los valores del grupo tratado con sitagliptina® (Grupo II) como fármaco control hipoglicemiente, arrojaron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) con respecto a las ratas con hiperglicemia experimental (Grupo III). Un efecto similar ($P \leq 0,05$) se evidenció en los grupos a los cuales se les administró la albahaca a dosis crecientes entre 1,0 y 2,0 g/kg (grupos IV al VI).

Discusión

Los resultados de la presente investigación permitieron identificar mediante estudios fitoquímicos, distintos metabolitos secundarios, entre los que se encuentran: fenilpropanoides, monoterpenos y sesquiterpenos, así como también metabolitos

Cuadro 3. Distribución de la población de estudio, según el protocolo experimental			
Grupo	Tratamiento	Dosis	Vía de administración
I Ratas Control	Solución Salina	1 mL	i/p
II Ratas hiperglicémicas	Aloxano monohidratado 10%	160 mg/Kg	i/p
III*	Sitagliptina®	400µg/Kg	Oral
IV	<i>Ocimum basilicum</i>	1,0 g/Kg	i/p
V	<i>Ocimum basilicum</i>	1,5 g/Kg	i/p
VI	<i>Ocimum basilicum</i>	2,0 g/Kg	i/p
VII	F1	200 mg/Kg	i/p
VIII	F2	200 mg/Kg	i/p
IX	F3	200 mg/Kg	i/p
X	F4	200 mg/Kg	i/p
XI	F5	200 mg/Kg	i/p

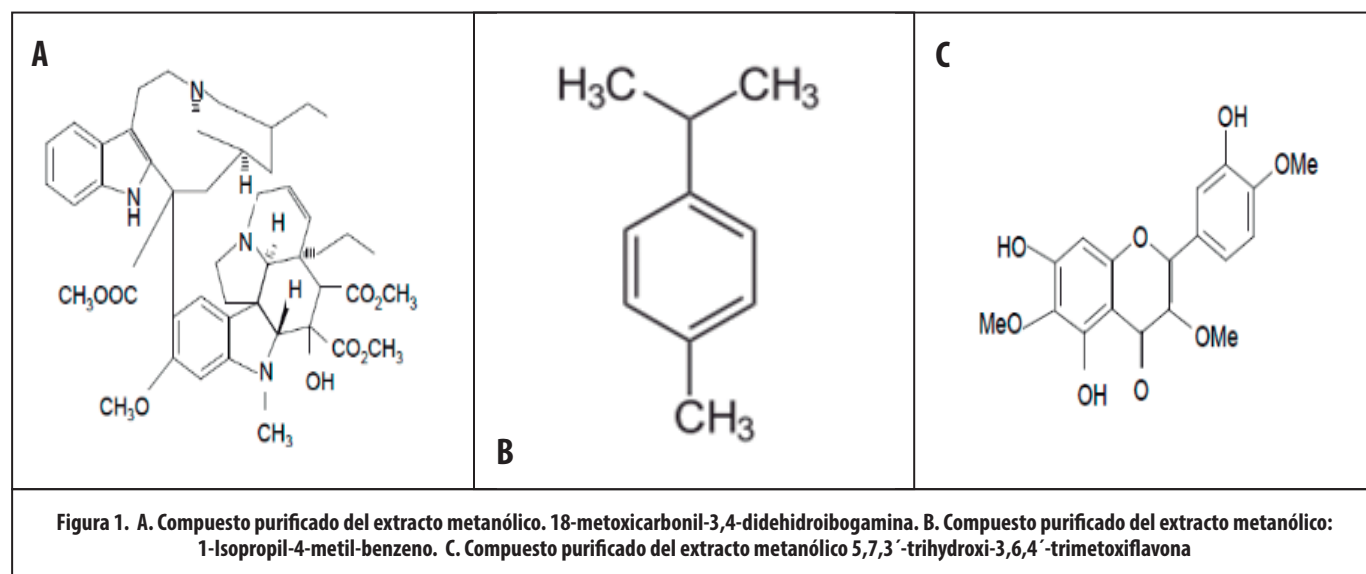
*Fármaco control hipoglicemiante; i/p: intraperitoneal.

derivados de los ácidos grasos con distintas características químicas, como ésteres y aldehídos. Según investigadores,¹¹ serían los responsables del aroma que caracteriza esta especie vegetal. No obstante, otros autores⁹ difieren de estas afirmaciones y señalan que estos compuestos han sido escasamente reportados en la albahaca y se sintetizan a partir de componentes en altas concentraciones, como los ácidos grasos insaturados y poliinsaturados por diferentes rutas bioquímicas. Posiblemente, el compuesto 1-monoglicérido, aislado en este estudio, constituye un precursor de estos metabolitos.

En este ensayo, también se obtuvo un alcaloide indólico, el 18-metoxicarbonil-3,4-dihidroibogamina (Figura 1), conocido como catarantina, el cual es de interés químico, ya que se emplea en la síntesis de anhidrovinblastina, un bisindólico antitumoral. Este compuesto es un constituyente principal de

la familia vegetal de las Apocynáceas que se ha investigado como alternativa en la fitoterapia del cáncer linfático,¹⁸ incluso se refiere como integrante de complejos proteicos en pro de las enterohormonas,¹⁹ lo que destaca su particular interés biomédico.

Asimismo, se aisló el monoterpeno 1-isopropil-4-metil-benzeno, conocido como p-cimeno, derivado de la deshidrogenación de algunos terpenos. Este compuesto ha sido reportado^{20,21} como tratamiento en la hiperplasia prostática benigna sintomática (BPH) y en las infecciones de las vías urinarias. La bibliografía lo refiere como responsable de modificaciones covalentes y demás reacciones bioquímicas que inducen a disminuciones drásticas de la concentración plasmática de glucosa, incluso se ha demostrado la estimulación de los gránulos insulinógenos secretores de las células beta del páncreas, incrementando



la biosíntesis de insulina,¹⁹ lo que mantiene relación con los resultados obtenidos, tras la administración de la F1 y la F2, respectivamente.

Los bioensayos realizados demuestran que las fracciones 3 y 4 ejercen, de manera independiente, un efecto hipoglicemiante similar a lo reportado para el *T. foenum-graceum*,²³ sugiriéndose que la administración experimental combinada de los compuestos 4 y 5 obtenidos de las hojas, tallos y raíces de *Ibervillea sonora* por cromatografía de columna, induce hipoglucemia.

El 18-metoxycarbonil-3,4-didehidroibogamina (catarantina) y hexacosanoato de metilo que destacan en las fracciones F1 y F5, respectivamente, pueden ser responsables del efecto hipoglucémico, atendiendo posibles asociaciones con proteasas del metabolismo de los ácidos grasos y los glúcidos, siendo un grupo bloqueador de la enzima dipeptidil peptidasa IV (cuya inhibición da por resultado incremento considerable de las concentraciones de enterohormonas capaces de incrementar la secreción insulínica de manera glucosa-dependiente) y activador de las subunidades de los receptores transmembrana de insulina.^{23, 24, 25}

La disminución en la concentración plasmática de glucosa, comprobada en el presente estudio, se podría explicar por la presencia del compuesto fenólico: 5, 7, 3'-trihydroxi-3, 6,4'-trimetoxiflavona (Figura 3). La bibliografía refiere que ciertos flavonoides están ligados a los receptores proliferadores de peroxisomas (PPARs), los cuales son antagonistas de los receptores de glucagón, con la realimentación positiva de los receptores de insulina.²⁶ Fármacos como la pioglitazona y rosiglitazona actúan como sensibilizadores en el receptor PPAR-γ, el cual se relaciona con la regulación por excitación y maduración del adipocito,^{27,28} lo que sugiere amplia vinculación con los resultados obtenidos (Cuadro 5), tras la administración de la F5 (218 mg/dL a 110 mg/dL ± 15).

En conclusión, la albahaca es una planta medicinal opcional en el tratamiento de la diabetes *mellitus* y en atención a los compuestos aislados, se recomienda realizar nuevos estudios que evalúen su cinética, formalizando así la inclusión de esta

Cuadro 4. Evaluación fitoquímica de compuestos y metabolitos secundarios del extracto metanólico de albahaca*	
Compuestos	Respuesta
Antraquinonas	+
Cumarinas	+
Alcaloides	-
Aminoácidos	+
Aminas	-
Oligosacáridos	+
Azúcares	-
Flavonoides	+
Glucósidos terpenicos	-
Terpenos	+
Respuesta positiva (+) del metabolito en el extracto; respuesta negativa (-) del metabolito en el extracto	

especie en el tratamiento de tal patología, al mismo tiempo que se podría disminuir los riesgos de salud pública por consumo indiscriminado de la albahaca.

Referencias

1. Wittman P. Das große Buch der Kräuter und Gewürze – Basilikum. Teub. 2008; 138: 219 - 227.
2. Werker E.. Function of essential oil secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae: a review. Flavour and Fragrance Journal. 1993; 8: 249-255.
3. Chirinos M, Velásquez R, Ascanio C, Mata J, Carrasqueño A. Obtención de los aceites esenciales de la albahaca (*Ocimum basilicum*) a partir de tejidos cultivados *in vivo* e *in vitro*. Rev. Fac. Agron. UCV. 2009; 35: 28-33.
4. Lezama K, Pereyra S, Limo S. *Lochroma smithianum* (Solanaceae) una nueva especie del Departamento La Libertad, Perú. Arnaldoa 2008;14: 23 -28.
5. Amarowicz R, Karamac M, Shahidi F. Antioxidant activity of phenolic fractions of lentil (*Lens culinaris*). Journal of Food Lipids. 2003; 10: 1-10.

Cuadro 5. Concentración de la glucosa sanguínea tras la administración diaria de sitagliptina®, extracto metanólico de albahaca a dosis crecientes (1,0 g/kg, 1,5 g/kg y 2,0 g/kg) y las fracciones 1 a la 51,2

Día	CN	CP	Sitagliptina® (400 µg/kg)	O. basilicum (1,0 g/kg)	O. basilicum (1,5 g/kg)	O. basilicum (2,0 g/kg)	F1	F2	F3	F4	F5
1	80	320	319** ± 2,03	269 ± 4,03	218 ± 5,44	200 ± 3,99	198 ± 5,67	217 ± 4,11	200 ± 4,33	210 ± 11,0	218** ± 15,0
2	78	307	257 ± 7,05	274 ± 5,01	190 ± 8,24	165 ± 5,01	179 ± 7,11	159 ± 3,99	175 ± 2,00	157 ± 8,03	157 ± 11,9
3	79	299	185 ± 6,05	218 ± 4,89	175 ± 8,14	135 ± 2,61	189 ± 3,58	187 ± 3,81	149 ± 4,03	149 ± 8,00	163 ± 8,90
4	80	319	150 ± 2,02	215 ± 8,00	155 ± 5,76	98 ± 6,71	156 ± 7,03	177 ± 9,00	135 ± 6,05	135 ± 9,01	132 ± 9,11
5	80	320	112 ± 8.12	180 ± 9,02	126 ± 9,04	89** ± 9,10	149 ± 9,04	148 ± 0,07	128 ± 4,32	126 ± 11,0	110** ± 10,6

¹Las concentraciones de glucosa fueron expresadas en mg/dL de plasma.

²La concentración para cada fracción fue de 200mg/kg de PC. En las distintas fracciones prevaleció un compuesto específico. Para mayores detalles, ver lo explicado en la discusión. CN: control negativo/ CP: control positivo. **Diferencia estadísticamente significativa menor o igual a 0,05 (P ≤ 0,05)

6. Rosero A, Camacho R, Polanco M, Gómez S. Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en fleón aislado de rata. *Univ Med Bogotá* 2009; 58: 98-109.
7. Colivet J, Belloso G, Hurtado E. Comparative study of the inhibiting effects of sweet pepper (*Capsicum chinense*) extracts on the growth of *Escherichia coli* AND *Bacillus* sp. *Saber*. 2006; 18:168-173.
8. Chiang L, Ng L, Cheng P, Chiang W, Lin, C. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2005; 32: 811-6.
9. González J, González H, González S, Rosales T, Andrade I. Microextracción en fase sólida de compuestos volátiles en albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Act Univ Guanaja*. 2011; 21: 17-23.
10. Carretero ME. Compuestos fenólicos: Taninos, Pano. *Actual. Med.* 2011; 235:633-636.
11. Meléndez M, Alvarado S. Antihyperglycaemic effect of the rue (*Ruta graveolens*) methanol extract in an experimental model of hyperglycemic rats. *Rev Fac Cs Vets UCV*. 2011; 52: 119-126.
12. Manual sobre el cuidado y uso de animales de experimentación. Consejo Canadiense de Protección de los Animales. 1998. Recuperado el 02 de enero de 2016. Disponible en: <http://www.fc.v.unl.edu.ar/comite/ManualsobreelcuidadoyusodeanimalesdeexperimentacionConsejoCanadiense>
13. Declaración de Helsinki. 2008. Principios éticos para las investigaciones médicas. Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia.
14. Figueroa L, Díaz F, Camacho A, López M. Efectos inducidos por *Cnidioscolus chayamansa* Mac Vaugh y *Citrus aurantium* L. sobre los niveles de glucosa, colesterol y triacilglicéridos en un modelo de rata diabética. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 2009; 19:898-907.
15. Fleitas A, Carballo R, Almeida G, Quintela A, Alfonso, M. Modelo experimental de diabetes en conejos. *Rev. Cubana. Angiol. Circ. Vasc.*, 2000; 1:10-14.
16. Loyola V. Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. *Rev Soc Quím de México*. 2004;48: 67-94.
17. Virkow J, Meléndez M. 2011. Stimulatory effect of pancreatic b-cells of rabbit p-cymene compound isolated and purified from wild plants. 2nd International Congress 2011 on Analytical Proteomics. 18 -21 July. Madrid, Spain.
18. Dreikorn K. The role of phytotherapy in treating lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *World J. Urol.* 2002; 19:426-435.
19. Dreikorn K, Berges R, Pientka L, Jonas U. Phytotherapy of benign prostatic hyperplasia. Current evidence-based evaluation. *Urologe*. 2002; 41:447-451
20. Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomed*. 1995; 2: 137-189.
21. Carvalheira J, Zecchin H, Saad M. Vias de sinalização da insulina. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2002; 46:419-425.
22. Di Girolamo G, Tamez A, Tamez H. Inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4: farmacodinamia, farmacocinética y seguridad. *Med. Int. Mex.* 2008; 24:142-7
23. Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, Palomino R, Villarreal A, Bonilla P. Coadjuvant hypoglycemic effect of *Annona muricata* L (guanábana) leaves ethanolic extract in patients with type 2 diabetes mellitus receiving glibenclamide treatment. *An. Fac. Med.* 2009;70: 163-167
24. Feinstein D, Spagnol A, Akar C, Weinberg G, Murphy P, Gavrilyuk V, Dello C. Receptor-independent actions of PPAR thiazolidinedione agonists: Is mitochondrial function the key?. *Biochem. Pharmac.* 2005; 70: 177-188.
25. Bailey C. Potential new treatments for type 2 diabetes. *Tren. Pharmac. Scien.* 2000; 21:259-265.
26. Panunti B, Fonseca V. Mechanisms and therapeutic targets in type 2 diabetes mellitus *Drug Discovery Today. Dis. Mechan.* 2000; 1:151-157.