



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS**



FACULTAD DE FARMACIA

**“Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos
de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes
potenciales de fármacos antidiabéticos”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN FARMACIA**

P R E S E N T A

DIANA ITZEL ALDANA TORRES

CODIRECTORES DE TESIS:

DR. SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO

DR. GERMÁN BERNAL FERNÁNDEZ

Cuernavaca, Morelos

2022

Cuernavaca, Morelos a 13 de octubre 2022
Folio: FF/M/SI/ CIP /MF/126/2022

L. F. DIANA ITZEL ALDANA TORRES
ALUMNA DE MAESTRÍA EN FARMACIA

P R E S E N T E

Por este medio le informo que el Consejo Interno de Posgrado (CIP), en su Sesión Ordinaria del 12 de octubre de 2022, designó a los siguientes sinodales como integrantes de la Comisión Revisora y Jurado para la tesis titulada “**Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes potenciales de fármacos antidiabéticos**”.

Sinodal		Adscripción
Presidente	Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez	Facultad de Farmacia-UAEM
Secretario	Dr. Cairo David Toledano Jaimes	Facultad de Farmacia-UAEM
Vocal 1	Dra. Blanca Iris Colín Lozano	Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Suplente 1	Dra. María Yolanda Ríos Gómez	CIQ-UAEM
Suplente 2	Dr. Samuel Enoch Estrada Soto	Facultad de Farmacia-UAEM

Se le solicita entregar el manuscrito de tesis para revisión a esta comisión y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Nota (Art. 74 RGEP-UAEM): Los sinodales tendrán un plazo máximo de 20 días hábiles contados a partir de la recepción del documento para entregar los comentarios de la revisión y para emitir un voto aprobatorio o negatorio. En caso de condicionar el voto a la entrega de un documento en el que el tesista deberá solventar lo revisado, este contará con un plazo no mayor a 20 días hábiles, contados a partir de la notificación del primer dictamen emitido, para integrar las correcciones señaladas, una vez fenecido dicho plazo el sinodal emitirá el voto aprobatorio o negatorio que corresponda.

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Sergio Alcalá Alcalá
Jefe del Posgrado en Farmacia

ccp: archivo.

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez; Dr. Cairo David Toledano Jaimes; Dra. Blanca Iris Colín Lozano; Dra. Ma. Yolanda Ríos Gómez; Dr. Samuel Enoch Estrada Soto



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha:2022-10-14 11:24:01 | Firmante

KgRaWuRxoRQHgBuB2R4fmANKP8I7BZGvS4JPHpTtHokeyZToFnZCd8PBvdqhd+iqN/R67xpVJ6Jj/ElcCQxBrlL1nOgE12HitWH41Y43T9/4/s3azSMWQGqb6VZPphyP6YHwzon4sMhmsHkcVQos3cVmjEVMLk2qfjmf5gN2PyDiytv0NsgXw+DoLvbpahIDQfTR8mjSMHi+Mkl6olOUmb1aaY2xMha+Te4Z8sG64S9F/bBVwhhHqL+b+n+bA2UDe2f5DrWZJnDVqUIBuVcxI27w5i09/ITC0RNbqsoRNUVmEk3bXOGUlxWHoxRG8/9du6eGjkEOsgQhznw9CqpYmg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[eBliJcqfU](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/JkPjYs2TsOou8smu8gM2Tra8pPB86cl9>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Diana Itzel Aldana Torres

Título de la tesis: “Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes potenciales de fármacos antidiabéticos”

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (sólo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2022-11-09 13:06:39 | Firmante

SlxSbyOPEqLDpVIG+umdnAWIGVJUk8Cp9bNePluLLMVCNGThBaYQibk02dYRR4Ch2A5/42oFgx4nnOY2bME/Dir0JVNKkcf5GuleFPaoZdZDY7+UxTcSbda1zL/hZ8uqQPE9e5XHUWzU7Fsuvq5ZBT/2GEXaLbWegV16MMMhfFMVRLh2lvfVWDdQooF7u/Nc9VAPUzABLEBjJrvtq5XbItUCot6/vhX4eXzRhw2lBzcAZHssi+4P7gPIRsGT1gfPnTJ3NETmUHpp1NoGe7ITZxm2bCq55ZIBMXU4qsVd+m7o89S1fEsoTknjGIXHDYwRi+83s4Svt1DzQoh0ZsBn1w==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[Z2IHLGrb6](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8K7juWFqFWXdv2WQwVyxTwfrBh06clsm>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Diana Itzel Aldana Torres

Título de la tesis: “Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes potenciales de fármacos antidiabéticos”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Cairo David Toledano Jaimes

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (sólo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

CAIRO DAVID TOLEDANO JAIMES | Fecha:2022-11-14 15:13:50 | Firmante

PWOofe5qBI3EATApSzUx6W2YgC3fprkEqjZbdo5S6CyU5kJ32DrNW1K9N578kFEs6dw7LVNuRD5M6twhck3fLUt5bUVcu/9jCRrmm3yb7j0xMt+EAZ31mx8hIT3BBko939qeumO
ZvqSVOLWwNS+pxhYIExbW5RHoWsMTnFn6UTof4GfqVleU4mDNGVPFp81kawoc7MglNxukgo1wOJqsyxNyZzOCWJ0jfQnTHjJHauD+NqSDdJCOTIHCCRX+zLgjing6c5Jbor5
Swp6ZFrz2Wmoc2mM80Aq9wQuNCjy6O5ClJjdk88/3Q2k0WIMSYteybVIEWxPQx9J+jw1Vn/Dowyg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[QdxSHneOW](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/NjmwFHRsUia27ZIJMx8ES3QRcRR7NkEI>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Diana Itzel Aldana Torres

Título de la tesis: “Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes potenciales de fármacos antidiabéticos”

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Blanca Iris Colín Lozano

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (sólo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

BLANCA IRIS COLÍN LOZANO | Fecha:2022-11-09 15:12:58 | Firmante

jkpeTDI/tv+c9ecwASeTscFoxnbOEN+m3CbJCGYrOpzbKz5lVYzIm3L5ABlVwOmoANfpU/wOL0xU+Pb3m6HGtz6GtUQ33m2Z+1rPYTHiyFBkVBZTJPAf/C09Ax8AmDAk+JsYW5JlIO1DKPhDuCryXZWUfnhruxcacChAZcKCoCmUjA2i4KQ4KcdVkbizXpkPXP3bmYksJK0MJXsVWGLKI/fu0MO2Zo/SxBAlYqreE2A4EWHcyKkyJqISlIQ1L2Ws2QUKjUHaURs3b4f18+tTsdzv0wyCUB6OazZv1Z2Xla15O5+MACNlcynsYN5upTJFNjplqskSssHgiwHNDbwBw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[6Uzj2msxX](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/QeUx5WRBkmw7LJihINIZUXmWshsiRulw>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Diana Itzel Aldana Torres

Título de la tesis: “Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes potenciales de fármacos antidiabéticos”

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. María Yolanda Ríos Gómez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (sólo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MA. YOLANDA RIOS GOMEZ | Fecha:2022-11-09 12:07:36 | Firmante

ZaU4r5u4l3pzJRv6cWynp2TbEriNh0YhGWGtyB2uqQTK1THaA7jktBZfTL6nk+pgNnZ0KLPPqy6ENPE3tYc/+PxXhyM+0sbSqC+IM6zQfTrLm0TRyUH+bXO/XYcRmVgYzw7/twR8ULGMtxDATDcNNkyJw8pfY7AcodWeEiyJm/oFlklnU3RCEZ/G944zJ4Fppg3UqQSDVv2BxaCgPnWOfC57N/lyM3m2hwY0JONPMvIVZD5p8CkBsVJjoZR4kbwWgkjPrI0HxOpZlgo fVgZO92mM9mz/oM2VsOeVRRpqGTAoo/Qz+F5n5Cq/GL41Q9KDHIZ3QMjmkDw0DXULvdEtYsgg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[D9kyEiKRN](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/mdYiYQcZdfv5OCpmnVjwCrgG17v9A1c3>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Diana Itzel Aldana Torres

Título de la tesis: “Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes potenciales de fármacos antidiabéticos”

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (sólo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2022-11-09 15:26:43 | Firmante

dR49s0BTyDFtQodusgsTk2KMb8i6im2EyKCaRgDV0v7lh7ggpv9UJ2CP0H5sO295Jl0YDILhAX+ueWzbM1d7DjHaaWjtduSpse5NwfkHnaV+vzkU7lrC2M4MCb9b5f+6mYKR5tD//Hi682W5ofkK1NQvKv4O17s9EqBR8vGsHrWtb6Fz5jOKQiEJOBKhtG8lOmlJrF5nfdh8YbbctaYVjKOaFV3NIC4LXxiByAAXDbq40q/0hyqZCXnwjliC+zBykAg2rXdmcidTBvtvH5f3S3Y76Z4rhReLiLIYGMmSd4+UyNqOH50Q0cX0VL/VgCVmcyDkVqM6RJAiOWjF19qlwg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



6UQWa53zt

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/eSsMxoTCaskHNpvdjkdfBJlw3raxPYCq>



AGRADECIMIENTOS

A CONACyT, por la beca otorgada para realizar los estudios de Maestría (CVU/Becario: 1024893/759306).

A la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por la infraestructura y facilidades brindadas.

A los miembros del comité tutorial: Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa, Dr. Gabriel Navarrete Vázquez, Dr. Germán Bernal Fernández y Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, por todos sus comentarios que permitieron el enriquecimiento de este proyecto.

A la L.F. Arlette Jacqueline Torres Figueroa y a Ofelio Aldana Hernández por su apoyo en la colecta del material vegetal.

A la Dra. Fabiola Chávez Silva por su ayuda en las Curvas de Tolerancia a la Glucosa.

A la Bióloga Elideth Méndez Tendero por su apoyo durante los perfiles bioquímicos.

Al Dr. Germán Bernal Fernández, por codirigir este proyecto y por todas sus aportaciones.

Al M. en F. Emmanuel Gaona Tovar por su ayuda durante el análisis fitoquímico preliminar.

A las M. en F. Karla Catalina Cruz Torres, Kathia Gisela Ornelas Mendoza y Kenia Xitlaly Salazar Lezama, por colaborar en la determinación del efecto antidiabético subagudo de *Argemone mexicana*.

A la M. en F. Monserrat Hernández Morales, por su apoyo durante los ensayos toxicológicos.

Al Dr. Samuel Estrada Soto, director de este proyecto, por permitirme seguir siendo parte de su grupo de trabajo, por compartir sus conocimientos y brindarme su confianza.

DEDICATORIAS

A mi familia: mis padres, mi abuelo, mis hermanos y mis suegros, porque formaron parte de esto al apoyarme cada uno a su manera.

A mis amigos: Mimi, Jessi y Víctor, por compartir buenos y malos momentos, por mantenerse en mi camino y por estar para mí siempre que lo he necesitado a pesar de la distancia.

A mis compañeros y amigos que formaron y siguen formando parte del L-10 (antes L-12), en especial a Katy, Cata, Kenia, Armando, Monse, Hugo, Gaona, Martín, Faby, y a mi alumno Sebas. Gracias por su amistad, por los conocimientos compartidos y por convertirse en otro pilar de apoyo durante este periodo.

Final y especialmente, a mi esposo: Mario. Por motivarme y hacerme aterrizar cuando era debido. Por ser mi amigo, confidente y compañero de vida.

-Diana

Este proyecto fue realizado durante la pandemia por COVID-19.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS.....	ii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	vii
ABREVIATURAS.....	viii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1 Diabetes	8
2.2 Epidemiología.....	9
2.3 Homeostasis de la glucosa	12
2.4 Insulina: biosíntesis y secreción.....	12
2.5 Vías de señalización de la insulina.....	14
2.6 Fisiopatología de la DT2.....	16
2.7 Resistencia a la insulina	17
2.8 Diagnóstico.....	19
2.9 Tratamiento.....	20
2.10 Las plantas medicinales como alternativa terapéutica	22
2.10.1 <i>Trichilia hirta</i>	23
2.10.2 <i>Argemone mexicana</i>	25
3. JUSTIFICACIÓN.....	27
4. HIPÓTESIS	29
5. OBJETIVOS	31
5.1 Objetivo general:.....	32
5.2 Objetivos específicos:	32
6. METODOLOGÍA.....	33
6.1 Colecta y preparación del material vegetal	34
6.2 Obtención de los extractos.....	34
6.3 Análisis fitoquímico preliminar	34

6.4	Animales	34
6.5	Evaluación del efecto antihiper glucémico.....	34
6.6	Determinación del efecto antidiabético	35
6.6.1	Modelo de Diabetes Experimental No Insulinodependiente (DENID).....	35
6.6.2	Ensayo antidiabético agudo.....	35
6.6.3	Ensayo antidiabético subagudo	36
6.6.4	Análisis del perfil de glucosa y lípidos	36
6.7	Determinación de la toxicología	36
6.7.1	Ensayo de toxicidad aguda.....	36
6.7.2	Ensayo de toxicidad subcrónica	37
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
7.1	Evaluación de los extractos hidroalcohólicos de <i>T. hirta</i>	39
7.1.1	Cromatografías en placa fina:	39
7.1.2	Curvas de tolerancia a la glucosa (CTG) del EHiATh y EHiATh-CT.....	40
7.2	Evaluación de los extractos obtenidos de <i>A. mexicana</i>	41
7.2.1	Análisis fitoquímico preliminar.....	41
7.2.3	Curvas de tolerancia a la glucosa del EHAm, EDAm y EMAm.....	44
7.2.4	Ensayo antidiabético agudo.....	45
7.2.5	Ensayo antidiabético subagudo	46
7.2.6	Evaluaciones toxicológicas	49
8.	CONCLUSIONES.....	54
9.	PERSPECTIVAS	56
10.	REFERENCIAS	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Países con mayor número de adultos (20-79 años) con diabetes en 2021 y pronóstico para 2045.....	10
Tabla 2. Listado de las 10 principales causas de muerte en México durante el periodo enero-junio 2021	11
Tabla 3. Alteraciones asociadas a la aparición de la RI	18
Tabla 4. Criterios para el diagnóstico de diabetes	20
Tabla 5. Ejemplos y mecanismo de acción de medicamentos usados en el tratamiento de la DT2.....	21
Tabla 6. Ensayo de toxicidad aguda.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación del porcentaje aproximado de los diferentes tipos de diabetes.....	8
Figura 2. Personas adultas con diabetes en el mundo y por región en 2021 y panorama hacia el 2030 y 2045	9
Figura 3. Modificación post-traducciona l de la insulina.....	13
Figura 4. Mecanismo de secreción de la insulina	14
Figura 5. Estructura del receptor de insulina	15
Figura 6. Vías moleculares de señalización de la insulina	16
Figura 7. División farmacológica y no farmacológica del tratamiento de la DT2	21
Figura 8. Fotografías de <i>Trichilia hirta</i> . Municipio de Emiliano Zapata, Morelos.....	23
Figura 9. Estructura química de los terpenos hirtina (a) e hirtinona (b).....	24
Figura 10. Fotografía de <i>Argemone mexicana</i>	25
Figura 11. Estructura química del alcaloide Berberina.....	26
Figura 12. Cromatografía en capa fina de los extractos EHiATh (A) y EHiATh-CT (B).....	39
Figura 13. Cromatografía en capa fina de los extractos EHAm, EDAm y EMAm, observada bajo luz UV a onda larga (izquierda) y onda corta (derecha).	42
Figura 14. Cromatografías en capa fina de los extractos EHAm, EDAm y EMAm, revelados con (de izquierda a derecha) sulfato cérico amoniacal, vainillina, cloruro férrico y reactivo de Dragendorff.	43
Figura 15. Prueba de Liebermann-Burchard antes de agregar H ₂ SO ₄ (izquierda) y después (derecha) aplicada a los extractos obtenidos de <i>A. mexicana</i>	44
Figura 16. Micrografías de los principales órganos metabolizadores del grupo vehículo vs. el grupo administrado con EDAm (100 mg/kg) de manera subcrónica	53

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Ensayo de tolerancia a la glucosa de los extractos hidroalcohólicos de corteza de ramas (EHiAth) y del tronco (EHiAth-CT) de <i>T. hirta</i> (100 mg/kg), vehículo (agua) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas.....	40
Gráfica 2. Ensayo de tolerancia a la glucosa de los extractos hidroalcohólicos de corteza de las ramas (EHiAth) y del tronco (EHiAth-CT) de <i>T. hirta</i> (312.5 mg/kg), vehículo (agua) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas.....	41
Gráfica 3. Ensayo de tolerancia a la glucosa de los extractos hexánico (EHAm) y metanólico (EMAm) de <i>A. mexicana</i> , vehículo (Tween 80 al 10%) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas.....	45
Gráfica 4. Ensayo de tolerancia a la glucosa del extracto diclorometánico (EDAm) de <i>A. mexicana</i> , vehículo (Tween 80 al 10%) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas.	45
Gráfica 5. Ensayo antidiabético agudo del extracto diclorometánico (EDAm) de <i>A. mexicana</i> en un modelo DENID en rata.	46
Gráfica 6. Variación en la glucemia antes (G0) de la administración oral subaguda del EDAm (100 mg/kg), Tween 80 al 10% y metformina (200 mg/kg) en un modelo DENID en rata, durante 15 días.	47
Gráfica 7. Variación en la glucemia después (G5) de la administración oral subaguda del EDAm (100 mg/kg), Tween 80 al 10% y metformina (200 mg/kg) en un modelo DENID en rata, durante 15 días.	47
Gráfica 8. Variación en el peso tras la administración i.g. del EDAm (100 mg/kg), Tween 80 al 10% y metformina (200 mg/kg) en un modelo DENID en rata, durante 15 días.	48
Gráfica 9. Perfil de glucosa y triglicéridos post-administración subaguda del EDAm (100 mg/kg), vehículo (Tween 80 al 10%), metformina (200 mg/kg), en el modelo DENID en ratas.....	49
Gráfica 10. Perfil de colesterol, HDL y LDL post-administración subaguda del EDAm (100 mg/kg), vehículo (Tween 80 al 10%), metformina (200 mg/kg), en el modelo DENID en ratas.....	49
Gráfica 11. Variación en el peso de los ratones tratados con EDAm vs. los tratados con vehículo durante 28 días de tratamiento.....	51
Gráfica 12. Variación de peso relativo de los principales órganos metabolizadores tras 28 días de tratamiento.	52
Gráfica 13. Valores de transaminasas (ALT y AST) después de 28 días de tratamiento.....	53

ABREVIATURAS

AST	Aspartato aminotransferasa
ALT	Alanina aminotransferasa
ATP	Trifosfato de adenosina
CTG	Curva de tolerancia a la glucosa
CTS	Curva de tolerancia a la sacarosa
DENID	Diabetes Experimental no insulino dependiente
dL	Decilitro
DT1	Diabetes tipo 1
DT2	Diabetes tipo 2
DG	Diabetes gestacional
DL ₅₀	Dosis letal media
DPP-4	Dipeptidil peptidasa 4
g	Gramos
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles
EDAm	Extracto diclorometánico de <i>Argemone mexicana</i>
EHAm	Extracto hexánico de <i>Argemone mexicana</i>
EMAm	Extracto metanólico de <i>Argemone mexicana</i>
EHiATH	Extracto hidroalcohólico de <i>Trichilia hirta</i>
EHiATH-CT	Extracto hidroalcohólico de corteza de tronco de <i>Trichilia hirta</i>
FID	Federación Internacional de la Diabetes
GLUT-2	Transportador de glucosa tipo 2
GLUT-4	Transportador de glucosa tipo 4
GLP-1	Péptido 1 similar al glucagón
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
i.g.	Intragástrica
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
i.p.	Intraperitoneal
IRS	Sustrato del receptor de insulina
IL-6	Interleucina 6
Kg	Kilogramos
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
Lp	Leptina
MAPK	Quinasas activadas por mitógenos
MFGs	Macrófagos
mL	Millilitro
OMS	Organización Mundial de la Salud
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
PI3K	Fosfatidil inositol 3 quinasa
PTOG	Prueba de tolerancia oral a la glucosa
PPAR-γ	Receptor de proliferación activado por peroxisoma γ
RI	Resistencia a la insulina
SGA	Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos
SGLT2	Transportador de sodio-glucosa tipo 2
TA	Tejido adiposo
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa

RESUMEN

Trichilia hirta y *Argemone mexicana* son plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la diabetes. Con el objeto de establecer su potencial antidiabético y seguridad toxicológica, se evaluaron los extractos obtenidos de ambas especies.

En el 2019, se comprobó la actividad antihiper glucémica y antidiabética del extracto hidroalcohólico de *T. hirta* obtenido de la corteza de las ramas del árbol (EHiATH), sin embargo, se presentaron inconvenientes para obtener dicho extracto, por lo que se obtuvo uno diferente, esta vez con el material vegetal de la corteza del tronco de la misma especie (EHiATH-CT). La comparación de EHiATH y EHiATH-CT mediante cromatografía en placa fina reveló que no contenían los mismos compuestos, además, el desempeño del EHiATH-CT en los ensayos de tolerancia a la glucosa realizados no fue comparable al del EHiATH al no presentar efecto antihiper glucémico. No obstante, se continuó con la misma metodología dirigida hacia la otra especie, *A. mexicana*, obteniendo tres extractos orgánicos que fueron evaluados en curvas de tolerancia a la glucosa para determinar su potencial antihiper glucémico. Los extractos (EHAm, EDAm y EMAm) disminuyeron significativamente la glucosa plasmática, siendo EDAm el de mayor actividad, por lo que fue seleccionado para administrarse en un modelo de diabetes experimental no insulino dependiente (DENID), en el que se realizaron dos tipos de ensayos antidiabéticos: uno agudo y otro subagudo, donde en ambos, EDAm demostró la capacidad de disminuir la glucemia de los animales empleados, de manera similar a los fármacos utilizados como control (glibenclamida y metformina).

Por otro lado, se realizaron los estudios toxicológicos pertinentes para aportar información acerca de la toxicidad de EDAm, lo que permitió clasificarlo en la categoría 3 (tóxico en caso de ingestión) del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA) debido a que la dosis letal media (DL₅₀) oscila entre los 300 y 2000 mg/kg. Además, se observaron niveles de transaminasas normales y la ausencia de daño en los órganos metabolizadores (hígado, corazón y riñón) tras la administración subcrónica del extracto a una dosis de 100 mg/kg.

ABSTRACT

Trichilia hirta and *Argemone mexicana* are plants used in Mexican traditional medicine to treat diabetes. To establish its antidiabetic potential and toxicological safety, the extracts obtained from both species were evaluated.

In 2019, the antihyperglycemic and antidiabetic activity of the hydroalcoholic extract from the bark of the branches of *T. hirta* (EHiATh) was verified, however, there were problems in obtaining said extract, so a different one was obtained, this time with the bark of the trunk of the same species (EHiATh-CT). The comparison of EHiATh and EHiATh-CT by thin layer chromatography revealed that they did not contain the same compounds, in addition, the performance of EHiATh-CT in the glucose tolerance tests carried out was not comparable to the EHiATh as it did not present an antihyperglycemic effect. However, the same methodology directed towards the other species, *A. mexicana*, was continued, obtaining three organic extracts that were evaluated in glucose tolerance curves (at 100 mg/kg) to determine their antihyperglycemic potential. The extracts (EHAm, EDAm and EMAm) significantly decreased plasma glucose, being EDAm the most active, so it was selected to be administered in an experimental non-insulin dependent diabetes model (DENID, by its acronym in Spanish), in which two types of antidiabetic tests were performed: one acute and one subacute, where in both, EDAm demonstrated the ability to lower the blood glucose of the diabetic animals employed, similarly to the drugs used as control (glibenclamide and metformin).

On the other hand, the pertinent toxicological studies were carried out to provide information about the toxicity of EDAm, which allowed it to be classified in category 3 (toxic if ingested) of the Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS) due to the median lethal dose (LD50) range is between 300 and 2000 mg/kg. In addition, normal transaminase levels and the absence of damage to organs (liver, heart, and kidney) were observed after subchronic administration of the extract at a dose of 100 mg/kg.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, un porcentaje importante de la población mundial se ve afectado por las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), dentro de las que figuran la hipertensión, enfermedades cardiovasculares y diabetes, entre otros padecimientos. Basándose en su etiología, la diabetes puede clasificarse en diferentes tipos, entre los que destaca el tipo 2 por representar alrededor del 90% del total de casos de la enfermedad a nivel mundial (OMS, 2022).

Es destacable y preocupante el número de muertes anuales a causa de complicaciones asociadas a la diabetes, por lo tanto, es de suma importancia que los pacientes con dicha enfermedad adopten un estilo de vida saludable, acompañado de un tratamiento farmacológico que contribuya a la disminución de la glucemia (FID, 2021).

Gracias a las actividades terapéuticas de numerosas especies vegetales, éstas han sido utilizadas desde la antigüedad en el tratamiento de diversas afecciones. Dichos atributos medicinales las han posicionado dentro de las primeras opciones a las que recurren los pacientes al presentar alguna enfermedad o síntoma (Gual, 2018).

Trichilia hirta y *Argemone mexicana* son plantas con bases etnomédicas y científicas, capaces de disminuir los niveles de glucemia plasmática característicos de la diabetes, por lo que ambas son consideradas blancos en la búsqueda y el desarrollo de nuevas moléculas con actividad antidiabética.

2. ANTECEDENTES

2.1 Diabetes

La diabetes es una enfermedad sistémica de origen metabólico, distinguida por la presencia de niveles elevados de glucosa plasmática de manera crónica, como consecuencia de la ineficacia de la insulina endógena, un déficit en su secreción o ambas (OMS, 2022).

En general, la diabetes puede clasificarse en los siguientes tipos (ADA, 2022):

- Diabetes tipo 1 (DT1): se asocia a la destrucción autoinmune de todas las células β del páncreas, ocasionando la deficiencia total en la secreción de insulina. Por esta razón, este tipo también es conocido bajo el nombre de "diabetes insulino dependiente", haciendo referencia a la necesidad del tratamiento con insulina exógena.
- Diabetes tipo 2 (DT2): la característica principal de este tipo es la resistencia a la insulina (RI), acompañada de pérdida progresiva en la secreción de la hormona. Es el tipo más común de diabetes, representando alrededor del 90% de todos los casos de diabetes en todo el mundo (Figura 1) (FID, 2021).
- Diabetes gestacional (DG): se presenta alrededor del segundo o tercer trimestre de embarazo y puede ser un factor para desarrollar diabetes tipo 2 en el futuro, tanto para la madre como para los hijos gestados.
- Otros tipos específicos de diabetes: se consideran otras causas, tales como el síndrome de diabetes monogénica (diabetes tipo MODY), enfermedades asociadas al páncreas; por el tratamiento con fármacos específicos, o incluso después del trasplante de órganos.

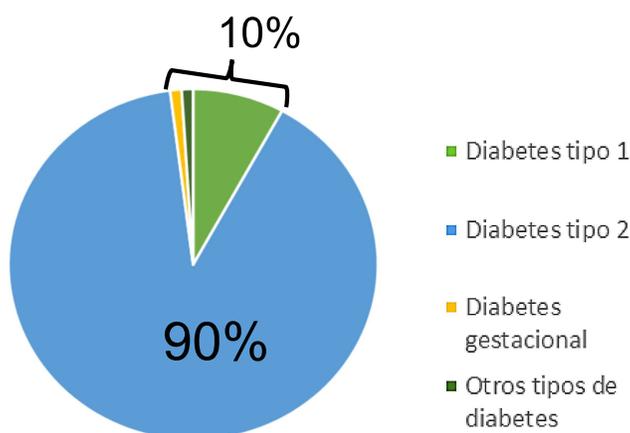


Figura 1. Representación del porcentaje aproximado de los diferentes tipos de diabetes (FID, 2021).

2.2 Epidemiología

Actualmente, la diabetes es un problema de salud alarmante a nivel global, contando con más de medio billón de personas afectadas. La Federación Internacional de la Diabetes (FID) declaró en las cifras epidemiológicas que el aproximado de personas adultas con el padecimiento fue de 537 millones durante el 2021 (FID, 2021).

Además, se realizaron estimaciones de las cifras hacia un panorama futuro, del año 2030 y 2045, donde se calculó un incremento hacia los 643 millones y 783 millones de afectados, respectivamente (Figura 2). Este incremento se pronostica en su mayoría para países con ingresos bajos a medios, lo que repercute en el gasto económico total enfocado al tratamiento de la diabetes. Referente a esto, se espera que en el 2030 el gasto ascienda a los 1.03 billones de dólares (20,538,560,500,000 MXN) y en el 2045 se alcancen los 1.05 billones de dólares (20,937,367,500,000 MXN) (FID, 2021).

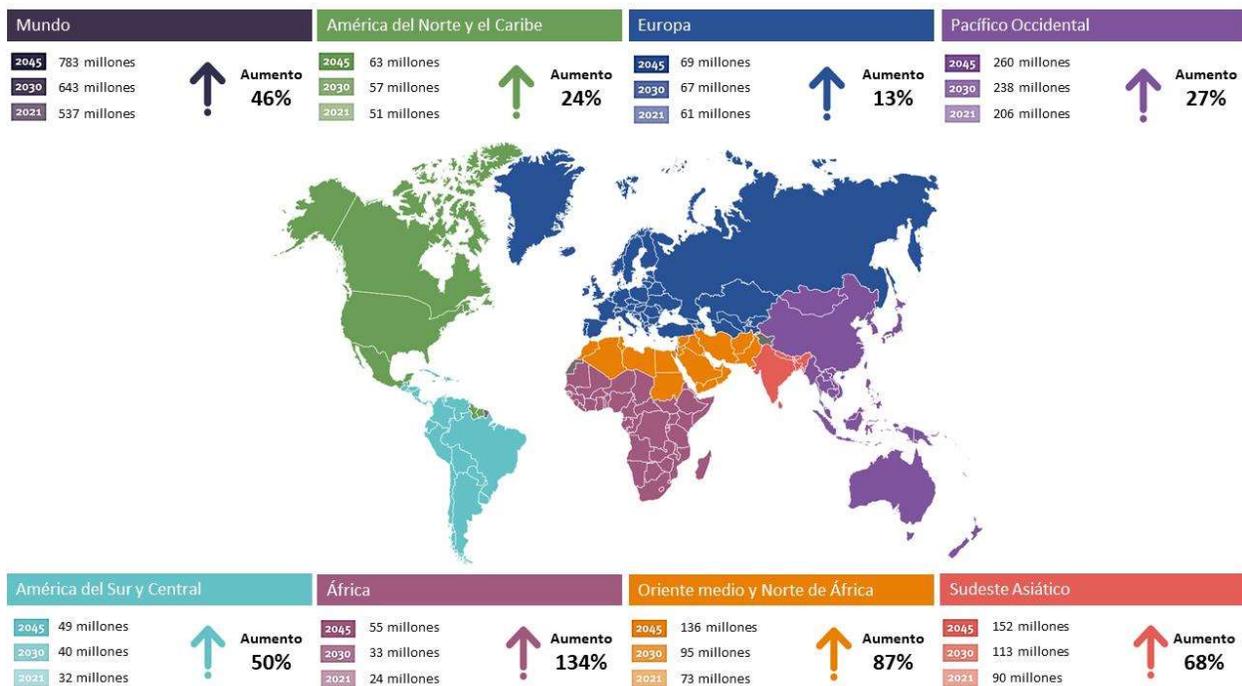


Figura 2. Personas adultas con diabetes en el mundo y por región en 2021 y panorama hacia el 2030 y 2045 (Modificado de: FID, 2021).

En ese mismo año, México se situó en la posición número 7 dentro del listado de los 10 países con mayor número de personas adultas con diabetes, siendo 14.1 millones los afectados. El

pronóstico del país hacia el 2045 no resulta demasiado alentador, debido a que, a pesar del descenso de México a la posición 8 del listado, esto ocurre mayormente por el empeoramiento del pronóstico para Bangladesh, y no debería observarse como un buen resultado del manejo de la enfermedad por parte de México (Tabla 1) (FID, 2021).

Tabla 1. Países con mayor número de adultos (20-79 años) con diabetes en 2021 y pronóstico para 2045 (Modificado de: FID, 2021).

2019			2045		
Clasificación	País/ Territorio	Número de personas con diabetes (millones)	Clasificación	País/ Territorio	Número de personas con diabetes (millones)
1	China	140.9	1	China	174.4
2	India	74.2	2	India	124.0
3	Pakistán	33.0	3	Pakistán	62.2
4	Estados Unidos	32.2	4	Estados Unidos	36.3
5	Indonesia	19.5	5	Indonesia	28.6
6	Brazil	15.7	6	Brasil	23.2
7	México	14.1	7	Bangladesh	22.3
8	Bangladesh	13.1	8	México	21.2
9	Japón	11.0	9	Egipto	20.0
10	Egipto	10.9	10	Turquía	13.4

Por otro lado, si se excluyen los riesgos de mortalidad asociados a la pandemia por COVID-19, durante el 2021 las complicaciones asociadas a la diabetes fueron la causa de aproximadamente 6.7 millones de defunciones a nivel global entre personas de 20 a 79 años, lo que corresponde al 12.2% de muertes globales de entre todas las causas (FID, 2021).

Aunado a esto, de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) y tomando en cuenta los datos de la primera mitad del 2021, se reportó a la diabetes dentro de las tres principales causas de muerte a nivel nacional (Tabla 2, Rango 3), sólo por debajo de las muertes ocasionadas por enfermedades cardíacas y las infecciones por COVID-19 (INEGI, 2022).

Tabla 2. Listado de las 10 principales causas de muerte en México durante el periodo enero-junio 2021 (Tomado de: INEGI, 2022).

Rango	Total	Hombre	Mujer
1	COVID-19 145,159 En 2020 fueron 51,402	COVID-19 89,716 En 2020 fueron 34,460	COVID-19 55,437 En 2020 fueron 16,941
2	Enfermedades del corazón 113,899 En 2020 fueron 98,572	Enfermedades del corazón 62,617 En 2020 fueron 54,394	Enfermedades del corazón 51,276 En 2020 fueron 44,173
3	Diabetes mellitus 74,418 En 2020 fueron 68,372	Diabetes mellitus 38,355 En 2020 fueron 35,522	Diabetes mellitus 36,056 En 2020 fueron 32,850
4	Tumores malignos 44,197 En 2020 fueron 44,717	Tumores malignos 21,482 En 2020 fueron 21,902	Tumores malignos 22,714 En 2020 fueron 22,815
5	Influenza y neumonía 20,956 En 2020 fueron 23,331	Enfermedades del hígado 15,041 En 2020 fueron 14,957	Enfermedades cerebrovasculares 9,161 En 2020 fueron 9,084
6	Enfermedades del hígado 20,644 En 2020 fueron 20,594	Agresiones (homicidios) 14,880 En 2020 fueron 15,982	Influenza y neumonía 8,242 En 2020 fueron 9,222
7	Enfermedades cerebrovasculares 18,843 En 2020 fueron 18,557	Accidentes 13,130 En 2020 fueron 12,095	Enfermedades del hígado 5,602 En 2020 fueron 5,636
8	Agresiones (homicidios) 16,972 En 2020 fueron 18,057	Influenza y neumonía 12,713 En 2020 fueron 14,107	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas 4,232 En 2020 fueron 5,687
9	Accidentes 16,912 En 2020 fueron 15,443	Enfermedades cerebrovasculares 9,681 En 2020 fueron 9,472	Accidentes 3,768 En 2020 fueron 3,335
10	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas 9,152 En 2020 fueron 12,071	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas 4,920 En 2020 fueron 6,384	Insuficiencia renal 3,033 En 2020 fueron 3,264

2.3 Homeostasis de la glucosa

Para poder entender los mecanismos a través de los cuales se desarrolla la diabetes, es necesario saber acerca de la naturaleza homeostática del organismo, el cual, siempre necesitará mantener un ambiente de estabilidad, por lo que, ante cualquier estímulo que represente un cambio en este sistema, se generará una respuesta para intentar reestablecer el equilibrio (Ortega *et al.*, 2005).

Para la mayoría de los organismos, la glucosa representa la principal fuente de energía. Su metabolismo comienza después de ser absorbida por transportadores específicos, dependientes o independientes de sodio, para posteriormente entrar al ciclo de Krebs y producir ATP (Osorio *et al.*, 2012).

Por otro lado, la regulación de la glucosa está relacionada con la función de hormonas como la insulina, de manera que la secreción de ésta a través de las células β del páncreas se verá influida por un aumento en la concentración de glucosa en plasma, como respuesta para reestablecer los valores de glucemia normales (70-100 mg/dL), a la vez que permitirá su ingreso y almacenamiento en diferentes tejidos (Yaribeygi *et al.*, 2018).

2.4 Insulina: biosíntesis y secreción

La insulina es una hormona que se biosintetiza inicialmente como preproinsulina, en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso de las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas. Posteriormente, su modificación enzimática permite la conversión de preproinsulina a proinsulina, compuesta por tres cadenas (A, B y C) de péptidos en forma de espiral. Esta proinsulina migra hacia el aparato de Golgi, donde es empaquetada en gránulos secretores y finalmente termina la transformación a insulina mediante la acción de convertasas prohormonas que actúan liberando al péptido C, quedando las cadenas A y B unidas por puentes disulfuro (Figura 3) (Weiss *et al.*, 2014).

Después de la ingesta de alimentos, el organismo experimenta un incremento en la concentración de glucosa plasmática y extracelular. En este sentido, el transportador de glucosa GLUT-2 juega un papel importante en la secreción de insulina, permitiendo el paso de las moléculas de glucosa hacia el interior de las células β -pancreáticas. Una vez dentro, la conversión de la glucosa a glucosa-6-fosfato es mediada por la glucoquinasa, para su posterior metabolismo en la mitocondria, dando como resultado la formación de ATP y el bloqueo de los canales de potasio dependientes de ATP. Este bloqueo provoca la despolarización de la membrana, ocasionando la apertura de los canales de calcio sensibles a voltaje y posibilitando

el aumento de calcio intracelular que promueve la liberación de los gránulos secretores de insulina por medio de exocitosis (Figura 4) (McGarry *et al.*, 1999).

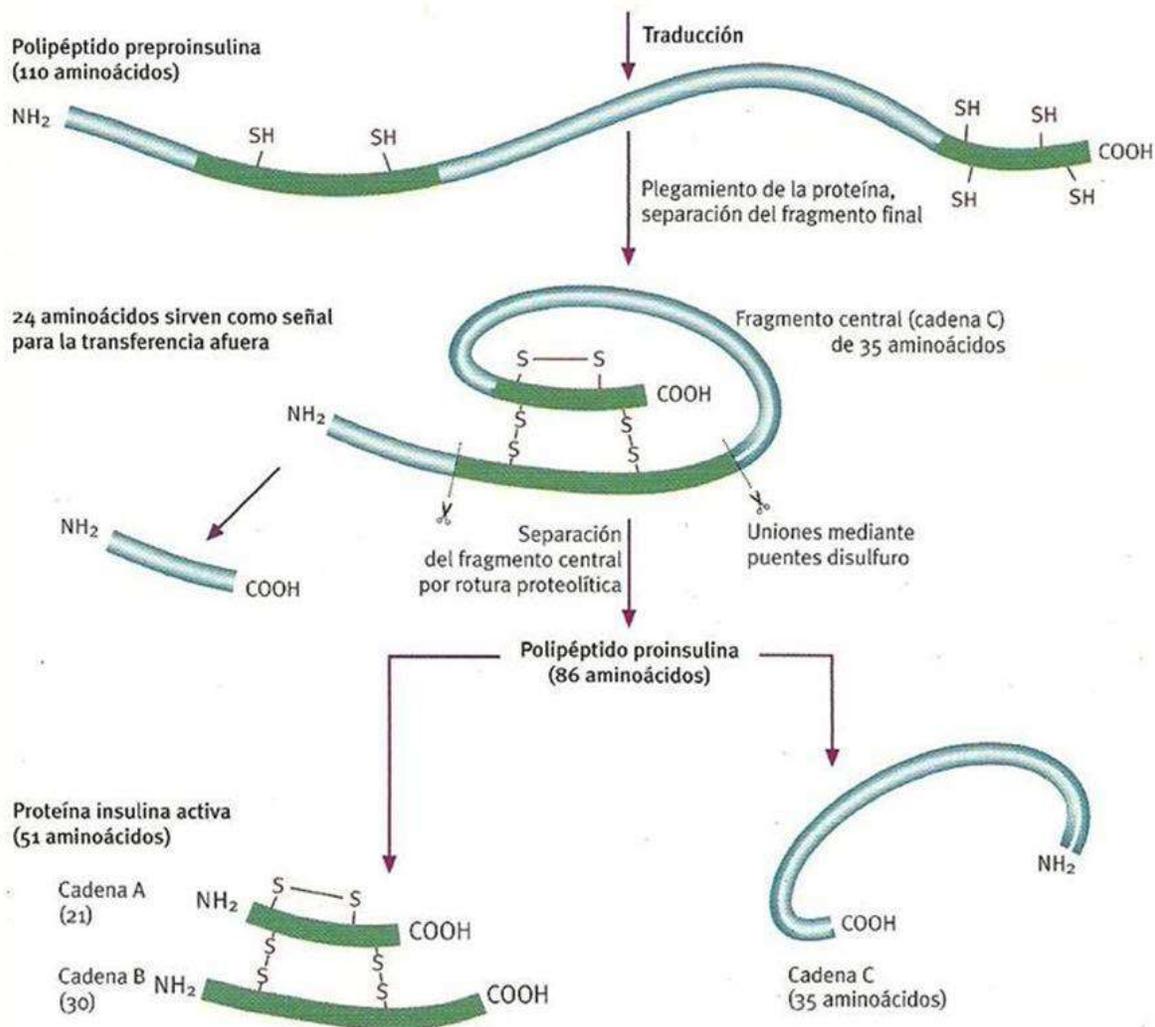


Figura 3. Modificación post-traduccional de la insulina (Tomado de: <https://elrinconicodelaciencia.wordpress.com/2012/12/29/proteasaslas-tijeras-moleculares/sintesis-de-insulina-abc/>).

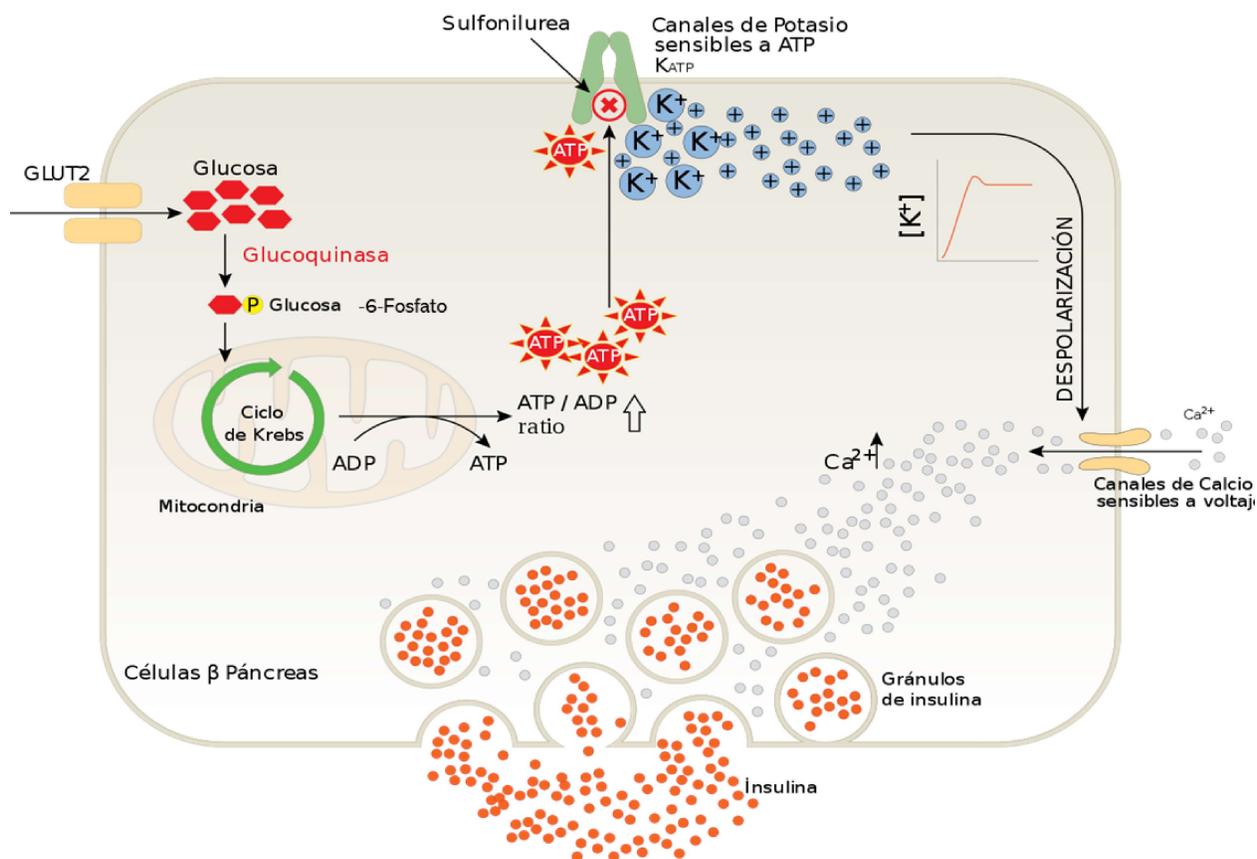


Figura 4. Mecanismo de secreción de la insulina (Modificado de: https://es.wikipedia.org/wiki/Insulina#/media/Archivo:Glucosa_Liberacion_Insulina_Pancreas.svg).

2.5 Vías de señalización de la insulina

En condiciones normales, la insulina secretada es capaz de unirse al receptor de insulina, que consta de dos subunidades α situadas en el exterior de la membrana celular, y dos subunidades β que atraviesan la membrana, unidas por puentes disulfuro (Figura 5) (Cheatham *et al.*, 1995).

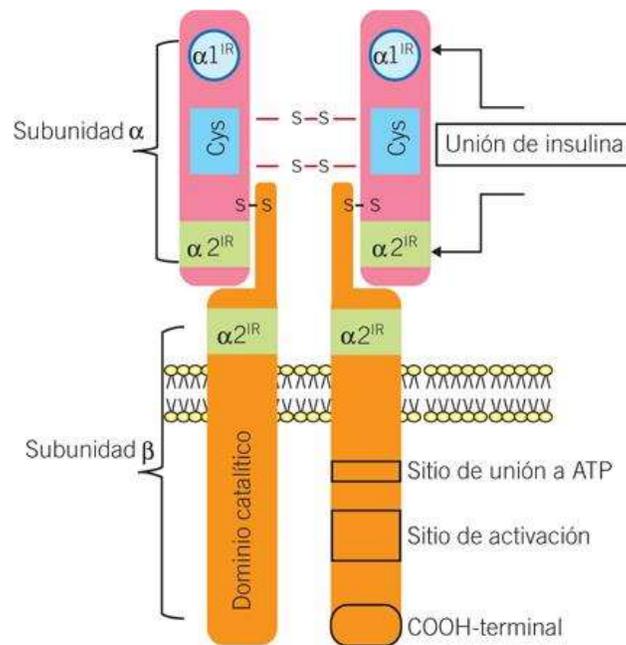


Figura 5. Estructura del receptor de insulina (Tomado de: Salazar *et al.* 2013).

La unión de la insulina a su receptor se da en la subunidad α , provocando un cambio conformacional y permitiendo la autofosforilación de los residuos de tirosina, lo que inicia la señalización principalmente por dos vías: la vía de las quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y la vía del fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) (Cheatham *et al.*, 1995).

La activación de la vía MAPK sucede al unirse Grb2 a Shc Tir-fosforilado, o al sustrato del receptor de insulina (IRS) por el dominio SH2. Grb2 está asociada a una proteína de intercambio de nucleótidos de mamíferos (mSOS), capaz de catalizar el cambio de GDP a GTP por la GTPasa Ras, activándola. Ras en estado activo se une a la parte intracelular de la membrana plasmática en la región amino de la proteína Raf. Esta interacción desplaza a las proteínas ligadas a Raf y permite su fosforilación por medio de cinasas de serina y treonina, liberando a la cinasa Raf. Raf-1 activa a MEK1, provocando la activación de ERK-1 y ERK-2: dos cinasas reguladoras de los procesos mitogénicos y anabólicos de la insulina que inducen la fosforilación de factores de transcripción nucleares como Elk-1, lo que permite la expresión de genes relacionados a las acciones del factor de crecimiento tisular de la insulina (Figura 6) (Bastarrachea *et al.*, 2005).

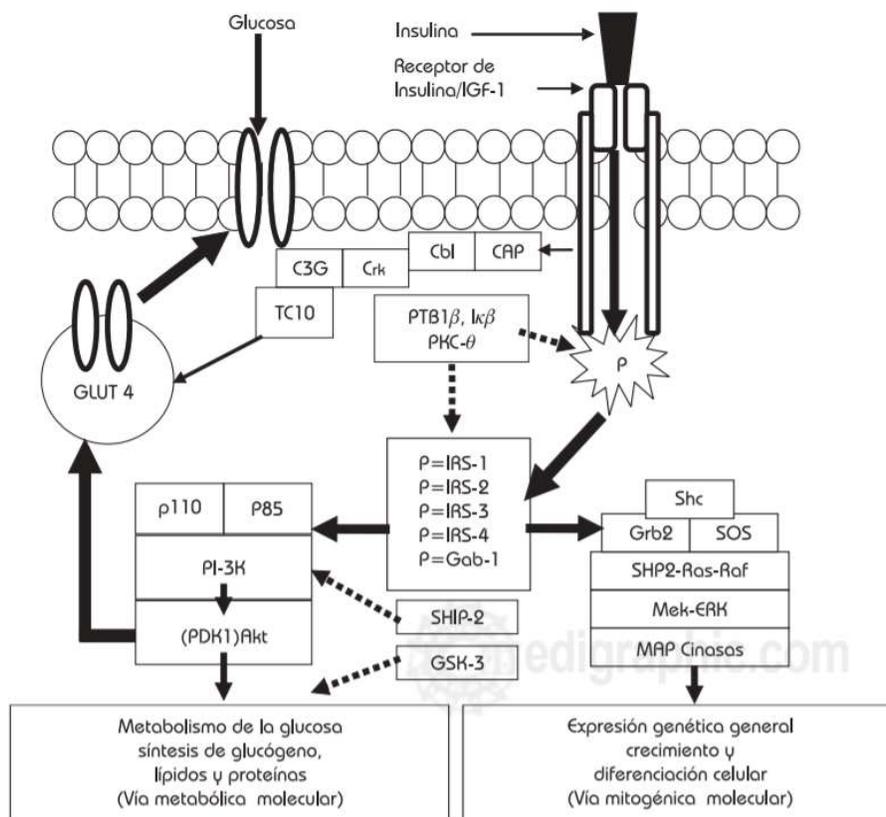


Figura 6. Vías moleculares de señalización de la insulina (Tomado de: Bastarrachea *et al.* 2005).

Por otro lado, en la figura 6 también se puede observar la principal vía asociada a la respuesta metabólica de la insulina: la vía de la PI3K. Ésta inicia con la asociación del complejo de proteínas reguladoras p85/p110 con las proteínas del IRS, provocando el cambio de la conformación de la subunidad p85, activando a p110 y estimulando la producción de la enzima PIP3, a la vez que activa a PDK1. La enzima PIP3 fosforila y activa la proteína Akt, dando como resultado la traslocación del transportador de glucosa GLUT-4, expresado en tejido muscular, adiposo y cardiaco, que posibilitará la entrada de glucosa al interior celular para su posterior metabolismo (Bastarrachea *et al.*, 2005).

2.6 Fisiopatología de la DT2

Al ser una de las hormonas involucradas en la distribución y control de los niveles de glucosa, si existe una deficiencia en la producción o en la señalización de la insulina, traerá como consecuencia el desequilibrio en la homeostasis de la glucosa, incrementando los niveles plasmáticos de ésta (Ortega *et al.*, 2005).

La patogénesis de la DT2 sigue sin ser clara, sin embargo, existen factores de riesgo que desempeñan un papel crítico en el desarrollo de la diabetes, tales como los malos hábitos alimenticios, la obesidad y el sedentarismo (sumado a las tendencias hereditarias a padecer la enfermedad) que, si persisten durante un prolongado periodo de tiempo, conlleva el desarrollar una de las principales características de la DT2: la resistencia a la insulina (RI) (Salazar *et al.*, 2013).

2.7 Resistencia a la insulina

La RI es un estado previo a la DT2, donde las células no responden adecuadamente a la hormona debido a inconsistencias en la señalización de esta o a la disminución de su capacidad para ejercer sus funciones (Salazar *et al.*, 2013). En la tabla 3 se describen las posibles alteraciones que se han identificado como contribuyentes a la resistencia (Malgor *et al.*, 2000). Además, siendo la obesidad uno de los principales factores asociados al desarrollo de la RI, y considerando que este factor puede asociarse con cierto grado de inflamación no benéfica, denominada "inflamación crónica de bajo grado", podemos asumir la participación de ciertas moléculas inflamatorias en el proceso de resistencia (Acosta, 2012).

De manera general, el tejido adiposo (TA) está constituido por adipocitos en un 50%, y el resto por macrófagos (MFGs), fibroblastos, células endoteliales y otros constituyentes vasculares. Estos MFGs constituyen del 5-10% del total de células del TA en un estado normal. Por otro lado, la ganancia de peso asociada a la alimentación permite la infiltración de MFGs al TA, contribuyendo al aumento de hasta un 60% de las células totales del tejido (Vieira, 2014).

Tabla 3. Alteraciones asociadas a la aparición de la RI (Malgor *et al*, 2000).

Tipo de alteración	Ejemplo
Pre-receptor	Anticuerpos anti-insulina que causan la destrucción de la hormona.
	Metabolismo acelerado de la insulina.
	Calidad química deficiente de la insulina.
En el receptor	Disminución y/o desensibilización de receptores.
	Presencia de anticuerpos anti-receptor.
Post-receptor	Modificaciones en las vías metabólicas donde interviene la insulina (IRS, PI3K, síntesis de transportadores de glucosa, expresión de los transportadores en la membrana plasmática, etc).

Principalmente, el TA posee la función de almacenamiento de triglicéridos, sin embargo, posee también una función endócrina de secreción de adipocinas que intervienen en la regulación del metabolismo energético, la respuesta inmune y vascular (Vieyra, 2014).

Se ha verificado la presencia de macrófagos infiltrados en el tejido adiposo, lo que podría deberse a la muerte de los adipocitos hipertrofiados o a la hipersecreción de citocinas proinflamatorias por parte del mismo tejido. Adicionalmente, esta secreción aumenta de manera proporcional al grado de obesidad, creando un ambiente inflamatorio donde existe un incremento en particular de las concentraciones del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), resistina, inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), leptina (Lp), fibrinógeno, entre otros (Acosta, 2012).

TNF-alfa es una proteína expresada en la membrana celular, cuya principal función es la inducción del proceso inflamatorio, asociándose con la acumulación de células proinflamatorias, la expresión de moléculas de adhesión vascular y la síntesis de otras citocinas proinflamatorias, como IL-1, IL-2, IL-6, interferón gamma (INF- γ) y el propio TNF- α . La acción de esta molécula puede verse potenciada por la acción de otras citocinas como las interleucinas 1, 6 y 8, por lo que en conjunto se les conoce como citocinas proinflamatorias. Se teoriza la participación de

TNF- α en la resistencia a la insulina debido a su capacidad de unirse a los receptores p55 y p775 que activan a las cinasas de la familia IKK, produciendo la fosforilación del factor nuclear-kB (NF-kB), promoviendo la fosforilación del sustrato del receptor de insulina-1 en el residuo de serina, evitando su interacción con la subunidad beta del receptor de insulina, deteniendo la señalización (Acosta, 2012).

Además, se ha confirmado que la expresión de GLUT-4 se ve afectada por TNF- α , ya que este último estimula 142 genes de citocinas, factores de crecimiento, y moléculas de señalización, entre otros, mientras disminuye la expresión de 72 genes entre los que se encuentran genes de expresión de GLUT-4, acetil-CoA sintetasa, adiponectina y del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR- γ) por NF-k β (Acosta, 2012).

En conjunto con lo anterior, el descenso en el número de células β y su déficit funcional son factores que contribuyen al inicio, desarrollo y establecimiento de la diabetes. Durante este proceso, en particular para DT2, es posible observar 3 fases (Pérez, 2009; ADA, 2022):

1. Aparición de RI periférica acompañada de hiperinsulinemia como parte de la respuesta del organismo para intentar conservar la homeostasis, de manera que la concentración de glucosa plasmática permanecerá en el rango normal (70-100 mg/dL).
2. Se presenta una RI más notoria a nivel del tejido muscular y adiposo, provocando que la hiperinsulinemia sea ineficiente al disminuir la concentración de glucosa periférica, resultando en concentraciones plasmáticas de glucosa entre los 100-125 mg/dL.
3. Fase marcada por la disfunción de las células β del páncreas después de su sobreestimulación, y, como consecuencia, la disminución de la síntesis de insulina e hiperglucemia en ayuno.

2.8 Diagnóstico

Al tratarse de una enfermedad compleja, el diagnóstico de la diabetes involucra el análisis de signos clínicos en el paciente, determinados por exámenes de laboratorio, tales como la determinación de glucosa plasmática en ayunas y a las 2 horas posteriores a una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG), acompañadas de la determinación de la hemoglobina glucosilada (A1C). Además de estos signos, el análisis sintomatológico es complementario para el diagnóstico, por lo que en pacientes con síntomas clásicos de hiperglucemia (polifagia,

olidipsia y poliuria) o con crisis hiperglucémica, se puede considerar la determinación de glucosa plasmática aleatoria (Tabla 4) (ADA, 2022).

Tabla 4. Criterios para el diagnóstico de diabetes (ADA, 2022).

Parámetro	Valor
Glucosa plasmática en ayunas	≥ 126 mg/dL
Glucosa 2 h post-PTOG	≥ 200 mg/dL
Hemoglobina glucosilada (HbA1C)	≥ 6.5 %
Glucosa plasmática aleatoria (en compañía de síntomas de hiperglucemia o crisis hiperglucémica)	≥ 200 mg/dL

Cualquiera de los criterios antes mencionados puede utilizarse para diagnosticar diabetes, sin embargo, para la confirmación del diagnóstico se deben obtener al menos dos parámetros alterados de la misma muestra o de muestras diferentes. Por otro lado, si desde el principio hay un diagnóstico inicial claro (ej.: paciente que presenta síntomas de hiperglucemia, del que se obtuvo un valor de glucosa plasmática aleatoria mayor a 200 mg/dL), no habrá necesidad de confirmar el diagnóstico (ADA, 2022).

2.9 Tratamiento

El tratamiento de la DT2 se compone de dos partes esenciales (Figura 7): 1) El tratamiento no farmacológico, que involucra el ejercicio y la mejora de la alimentación de los pacientes, y 2) el tratamiento farmacológico, haciendo uso de fármacos que actúan a través de distintos mecanismos de acción y que permiten regular la hiperglucemia de la enfermedad y las complicaciones asociadas (Alcántara *et al.*, 2016).

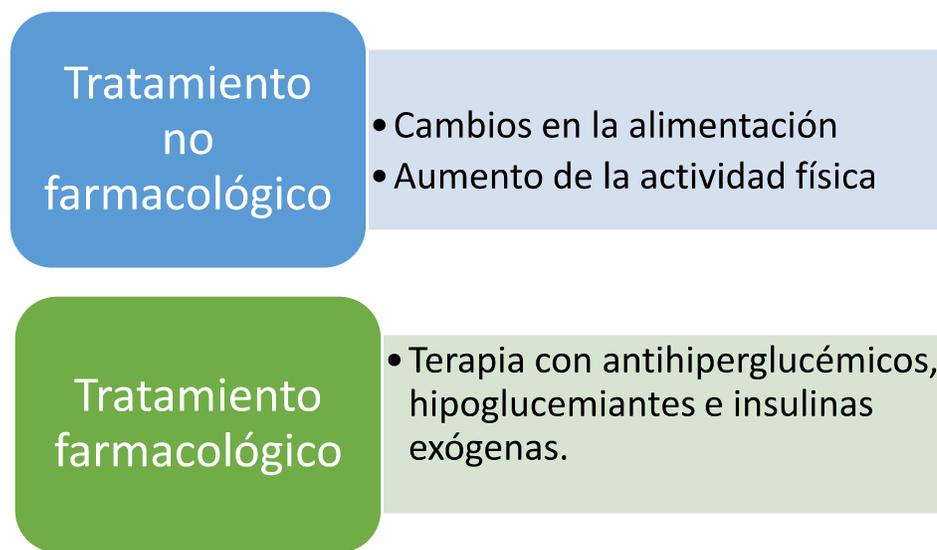
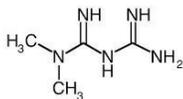
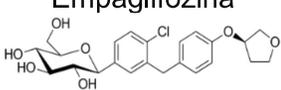
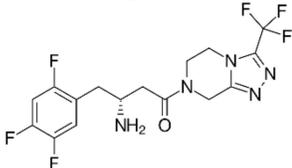
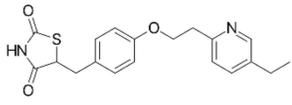
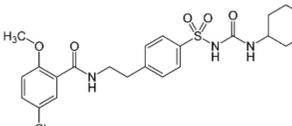
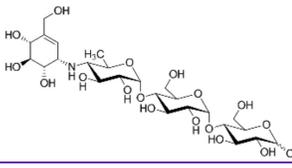


Figura 7. División farmacológica y no farmacológica del tratamiento de la DT2 (Alcántara *et al.*, 2016).

Siendo el desarrollo de la DT2 muy diferente de paciente a paciente, la terapia farmacológica debe adecuarse al individuo y sus necesidades. En la tabla 5 se enlistan ejemplos de los medicamentos más utilizados en el tratamiento de esta enfermedad (ADA, 2022).

Tabla 5. Ejemplos y mecanismo de acción de medicamentos usados en el tratamiento de la DT2 (ADA, 2021; Aylwin, 2016; Mateos *et al.*, 2002).

Clase	Mecanismo de acción	Ejemplo
Biguanidas	Disminuyen la RI al aumentar la glucogenólisis, la captación de glucosa y al disminuir la gluconeogénesis.	Metformina 
Inhibidores del transportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2)	Bloquean los SGLT-2, impidiendo la reabsorción de glucosa por el riñón, produciendo glucosuria.	Empaglifozina 
Agonistas del receptor del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1)	Imita la acción del GLP-1, estimulando la secreción de insulina de las células β -pancreáticas y disminuyendo la secreción de glucagón.	Lixisenatida H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-NH ₂

Inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4)	Inhiben a la DPP-4, aumentando los niveles y la acción de incretinas endógenas (como GLP-1), aumentando la secreción de insulina y disminuyendo la secreción de glucagón.	<p>Sitagliptina</p> 
Tiazolidinedionas	Disminuyen la RI por su unión al receptor PPAR- γ .	<p>Pioglitazona</p> 
Sulfonilureas	Su unión al receptor de membrana SUR provoca el bloqueo de canales de K ⁺ dependientes de ATP, estimulando la secreción de insulina.	<p>Glibenclamida</p> 
Inhibidores de α -glucosidasas	Inhiben a las enzimas encargadas de la hidrólisis de disacáridos en el intestino.	<p>Acarbosa</p> 
Insulina	Su unión al receptor de insulina en células musculares y adiposas facilita la absorción de glucosa, inhibiendo la producción de glucogenólisis.	<p>Lispor, Aspart, Insulina humana regular, NPH, Glargina, premezclas</p>

2.10 Las plantas medicinales como alternativa terapéutica

Antes de la conquista, en México era común la práctica de la medicina tradicional por parte de curanderos, sin embargo, esto cambió ante la llegada de los españoles, resultando en la incorporación de plantas nuevas y una mezcla de los métodos de curación. En la actualidad, una buena parte del uso tradicional de las plantas medicinales consiste en lo que se considera tratamientos “alternativos” o “complementarios”, los cuales son empleados para diversas patologías, entre ellas, la diabetes. Este conocimiento usualmente es transmitido de generación en generación de manera oral, y forma parte de la historia y cultura de los grupos étnicos (Pérez, 2008).

El estudio científico de las plantas medicinales tiene sus bases en los compuestos presentes en cada una de las partes o en la totalidad de la planta, a los que pueden atribuirse actividades farmacológicas de importancia, permitiendo el establecimiento de estas entidades como fuente potencial para la obtención y el desarrollo de fármacos (Santillán, 2012).

Dentro de la diversidad de plantas medicinales utilizadas comúnmente para el tratamiento de la DT2 se encuentran *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana*, que se describen a continuación.

2.10.1 *Trichilia hirta*

T. hirta (también conocido como coyol, tapa queso o acahuite) es un árbol de la familia *Meliaceae*, ampliamente distribuido en América Latina. Crece en bosque tropical caducifolio, subcaducifolio y bosque de *Quercus*, alcanzando longitudes desde los 5 hasta los 10 metros (Figura 8), dependiendo el clima donde se desarrolle. Presenta hojas de forma lanceolada y flores de color verde-banquecino. Los frutos son verdes, de aspecto aterciopelado en su forma inmadura, que se abren en tres partes al madurar, mostrando una característica semilla de color rojo-anaranjado, de las que es posible extraer un aceite que se utiliza con fines cosméticos para el cabello, o como remedio antiopiojos (Fern, 2014; Germán, 2007).

Antecedentes etnomédicos

Esta especie ha sido utilizada tradicionalmente en el tratamiento de tumores, úlceras externas y enfermedades del sistema respiratorio (Hernández *et al.*, 2013). Además, en el estado de Guerrero la corteza del árbol es utilizada como desparasitante (Germán, 2007) y en Morelos como tratamiento para la hiperglucemia característica de la diabetes (Aldana, 2019).



Figura 8. Fotografías de *Trichilia hirta*. Municipio de Emiliano Zapata, Morelos, en el mes de febrero del 2020).

Antecedentes fitoquímicos y farmacológicos

Se han logrado aislar gran variedad de metabolitos secundarios en especies del género *Trichilia*, tales como terpenos, esteroides, limonoides, cumarinas, flavonoides, lignanos, ácidos fenólicos, aminoácidos y lactonas (Vieira *et al.*, 2014). Ejemplo de estos compuestos son la procianidina B2, catequina, epicatequina, ácido clorogénico y cinconañina, además de polifenoles y taninos. En específico, para *T. hirta* se han aislado variedad de alcaloides, cumarinas, saponinas, flavonoides, azúcares reductores, terpenos (hirtina e hirtinona, Figura 10), esteroides, antocianidinas, quinonas y compuestos fenólicos, entre otros (Hernández *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2009; Vieira *et al.*, 2013, Gomes *et al.*, 2017).

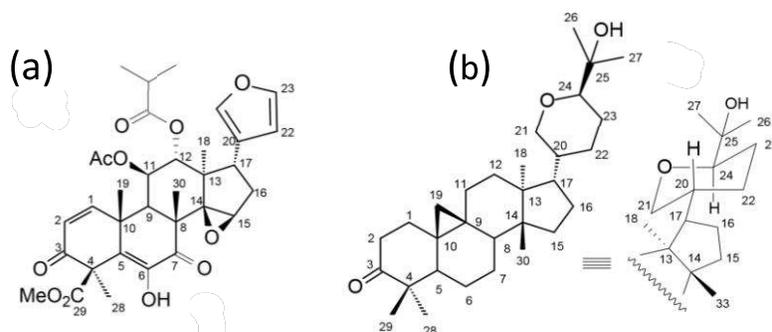


Figura 9. Estructura química de los terpenos hirtina (a) e hirtinona (b) (Vieira *et al.*, 2013).

Por otro lado, en estudios recientes se comprobó la actividad antihiper glucémica a una dosis de 100 mg/kg de los extractos metanólico (EMTh) e hidroalcohólico (EHiAth) obtenidos de la corteza de *T. hirta*. Ambos extractos disminuyeron significativamente el pico hiper glucémico en curvas de tolerancia a la glucosa (CTG) y a la sacarosa (CTS) en ratones normoglu cémicos, lo que sugiere la participación de mecanismos de inhibición de alfa-glucosidasas, mecanismos insulinosensibilizadores y/o de estimulación pancreática para la secreción de insulina, destacándose el EHiAth al mostrar un mayor efecto en la disminución de la glucosa plasmática (Aldana, 2019).

El EHiAth también disminuyó el porcentaje de variación de glucosa en ratones del modelo de Diabetes Experimental No Insulinodependiente (DENID), lo que refuerza la idea de que el EHiAth actúe a través de mecanismos insulinosensibilizadores y/o pancreáticos. Además, el EHiAth fue sometido a una evaluación aguda de la toxicidad, donde la dosis letal media (DL₅₀) estimada fue mayor a 2000 mg/kg, por lo que el extracto pudo clasificarse en la categoría 4 del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado (SGA, 2011), con la leyenda

“nocivo en caso de ingestión” (Aldana, 2019). Estos resultados permitieron posicionar al EHiATH como un buen candidato para profundizar en su estudio antidiabético y toxicológico.

2.10.2 *Argemone mexicana*

A. mexicana es una hierba erecta que puede alcanzar los 100 cm de altura, de tallo espinoso verdeazulado, con hojas del mismo color (Figura 11). Las flores están formadas por seis pétalos amarillos y los frutos son cápsulas espinosas que en su interior contienen semillas redondas y negras. Pertenece a la selva baja caducifolia y es común observarle en zonas áridas, en cultivos, pastizales y orillas de carreteras. Su distribución geográfica abarca desde Estados Unidos de América hasta Perú y Paraguay (Vibrans, 2009).



Figura 10. Fotografía de *Argemone mexicana* (Tomado de: <https://centrosconacyt.mx/objeto/cardo/>)

Antecedentes etnomédicos

En la medicina tradicional mexicana se utiliza el látex y la flor para curar la irritación y carnosidad de los ojos, mientras que la corteza en decocción se aplica como fomento contra las cataratas. Por otro lado, también se le atribuyen propiedades antidiarreicas, purgantes, contra la piel irritada y la sordera. Asimismo, *Argemone mexicana* se encuentra dentro de las plantas utilizadas para el tratamiento de la diabetes. (Monroy *et al.*, 2007).

Antecedentes fitoquímicos y farmacológicos

Se ha demostrado la actividad antidiabética aguda y subaguda del extracto hidroalcohólico y sus fracciones de cloroformo y agua obtenidas de las partes aéreas de *A. mexicana*, de acuerdo con lo descrito por Nayak *et al.* (2011, 2012). Además, se sabe que las partes aéreas de la planta contienen un alcaloide del tipo isoquinolina, llamado Berberina, que posee efecto hipoglicemiante y modulador del metabolismo de lípidos demostrado en un modelo de diabetes, además de poseer la capacidad de proteger contra los radicales libres (Rout, *et al.*, 2011).

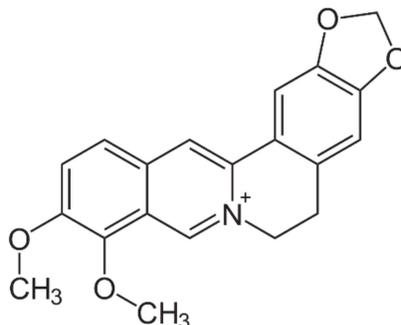


Figura 11. Estructura química del alcaloide Berberina.

3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes es un problema de importancia mundial debido a la alta prevalencia de la enfermedad y al continuo aumento en el número de personas que la padecen. Durante el 2021 México se posicionó en el séptimo lugar del listado de países con mayor número de personas con diabetes, y, en ese mismo año, se calcula que el número de muertes en el país causadas por complicaciones asociadas a la enfermedad fue de alrededor de 74,418 defunciones, lo que convirtió a la diabetes en la tercera causa de muerte a nivel nacional. Aunado a esto, el costo del tratamiento para la hiperglucemia impacta en la economía del país, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas que amplíen el panorama terapéutico, involucrando la prevención y el control de la enfermedad (FID, 2021; INEGI, 2022).

Las plantas medicinales son de las principales fuentes de obtención de entidades químicas con potencial farmacológico, que se realiza utilizando criterios como el etnomédico (medicina tradicional) y quimiotaxonómico (similitud que comparten las especies en cuanto a compuestos y efectos farmacológicos) (Gual, 2018).

Por lo anterior escrito, este proyecto pretende demostrar la actividad antidiabética atribuida a las especies medicinales *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana*, así como generar conocimiento y aportar bases farmacológicas y toxicológicas que den sustento de su uso y seguridad en el tratamiento de la DT2.

4. HIPÓTESIS



**“Determinación de los efectos antidiabéticos y toxicológicos
de *Trichilia hirta* y *Argemone mexicana* como fuentes
potenciales de fármacos antidiabéticos”**



El extracto hidroalcohólico de *T. hirta*, así como los extractos orgánicos de *A. mexicana* mostrarán efecto antidiabético y seguridad toxicológica en modelos murinos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

Determinar el efecto antidiabético y toxicológico del extracto hidroalcohólico de *T. hirta* y los extractos orgánicos de *A. mexicana* en modelos murinos.

5.2 Objetivos específicos:

- Determinar el efecto antihiper glucémico del extracto hidroalcohólico de *T. hirta* y los extractos orgánicos de *A. mexicana* en un modelo normoglucémico de rata.
- Determinar el efecto antidiabético agudo y subagudo del extracto más activo de *A. mexicana* en un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente (DENID) en rata.
- Analizar el perfil de glucosa y lípidos de las ratas con diabetes experimental no insulino dependiente del modelo subagudo.
- Evaluar la seguridad toxicológica del extracto más activo de *A. mexicana* mediante el ensayo toxicológico agudo y subcrónico.

6. METODOLOGÍA

6.1 Colecta y preparación del material vegetal

El material vegetal de *Trichillia hirta* (corteza de ramas y tronco) se obtuvo mediante su colecta en el municipio de Emiliano Zapata, Morelos. Por otro lado, *Argemone mexicana* (planta completa) fue colectada en el municipio de Tetecala, Morelos por la L. F. Arlette Jaqueline Torres Figueroa. Ambas plantas se dejaron secar a la sombra y a temperatura ambiente para, posteriormente, fragmentar cada una utilizando un molino eléctrico de alta velocidad.

6.2 Obtención de los extractos

El material molido de *T. hirta* y *A. mexicana* fue macerado por separado, durante 72 horas y por triplicado con diferentes disolventes y en orden creciente de polaridad. Cada macerado se filtró por gravedad para su posterior concentración con un rotavapor de la marca Buchi, obteniendo así los extractos hidroalcohólicos de corteza de rama (EHiATh) y tronco (EHiATh-CT) de *T. hirta*, además del extracto hexánico (EHAm), diclorometánico (EDAm) y metanólico (EMAm) de planta íntegra de *A. mexicana*.

6.3 Análisis fitoquímico preliminar

Se realizaron cromatografías en placa fina para todos los extractos obtenidos, utilizando cromatoplasmas de sílica gel como fase estacionaria, y una mezcla de diclorometano/metanol en proporción 95:5 como fase móvil. A manera de reveladores se empleó una lámpara de luz ultravioleta, sulfato cérico amoniacal, vainillina, cloruro férrico y reactivo de Dragendorff. Adicionalmente, se realizó la prueba de Liebermann-Burchard en tubos para la identificación cualitativa de triterpenos en los extractos.

6.4 Animales

Se utilizaron ratas macho adultas de 250-350 g de la cepa Wistar (para los ensayos antidiabéticos y antihiper glucémicos) y ratones CD1 de 25-35 g de peso (para los ensayos toxicológicos). Ambas especies murinas se alimentaron con nutricubos Purina® y agua *ad libitum*, a la vez que se mantuvieron en condiciones de laboratorio con ciclos de 12x12 horas de luz y oscuridad. Su manejo se efectuó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (SAGARPA, 1999).

6.5 Evaluación del efecto antihiper glucémico

Para determinar la actividad antihiper glucémica se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa (CTG): se formaron 3 grupos de ratas Wistar normoglu cémicas con ayuno previo de 16 h y agua *ad libitum*. Se les midió la glucemia basal (G_0) e inmediatamente después se administró vía intragástrica (i.g.) al grupo 1 con 100 mg/kg del extracto de prueba (por razones explicadas en el

apartado de resultados, posteriormente también se decidió evaluar la dosis de 312.5 mg/kg sólo para los extractos EHiATh y EHiATh-CT), al grupo 2 con glibenclamida (5 mg/kg) como control positivo y al grupo 3 con el vehículo utilizado (agua o Tween 80 al 10% dependiendo de la polaridad de cada extracto) a manera de control negativo. Pasados 30 minutos, se administró una carga de glucosa de 2 g/kg por la misma vía y se monitoreó la glucosa plasmática de los animales a las 0.5, 1, 2 y 3 horas posteriores a la administración del sacárido, utilizando un glucómetro Accu-Check® Performa de la marca Roche para obtener los valores.

ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados obtenidos se representaron gráficamente mediante el cálculo del porcentaje de variación de glucosa con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Variación de glucemia} = [(G_x - G_0) / G_0] \times 100$$

Donde G_0 es la glucemia basal y G_x representa el valor de glucemia medido a cada tiempo (Chávez, 2019). Para el análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías con prueba *post-hoc* de Bonferroni ($p < 0.05$) y la construcción de las gráficas se utilizó Graphpad Prism v. 9.

El extracto que demostró mayor actividad antihiper glucémica en los gráficos obtenidos fue seleccionado para proseguir con la evaluación antidiabética y toxicológica.

6.6 Determinación del efecto antidiabético

6.6.1 Modelo de Diabetes Experimental No Insulinodependiente (DENID)

Para implementar el modelo DENID, se administró nicotinamida (110 mg/kg) vía intraperitoneal (i.p.) y, 15 minutos después, estreptozotocina (65 mg/kg) disuelta en buffer frío de citratos a pH 4.5 por la misma vía. Dos semanas post-administración se monitoreó la glucemia plasmática y se eligieron aquellos animales con valores superiores a los 180 mg/dL.

6.6.2 Ensayo antidiabético agudo

Posterior a la diabetización, las ratas seleccionadas se dividieron en tres grupos ($n=6$) y se sometieron a un ayuno de 13 horas antes de medir la glucemia basal (G_0), para luego administrar el extracto de mayor actividad (100 mg/kg) al grupo 1, glibenclamida (10 mg/kg) al grupo 2 y el vehículo (Tween 80 al 10%) al grupo 3, todo vía i.g. El monitoreo de glucosa se realizó a las horas 1, 3, 5 y 7 post-administración.

ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos se procesaron de manera similar al ejecutado durante las CTG para obtener el análisis estadístico y las gráficas de porcentaje de variación de glucosa.

6.6.3 Ensayo antidiabético subagudo

Se formaron tres grupos de ratas Wistar (n=6) del modelo DENID, a los que se administró diariamente vía i.g. con 1) el extracto más activo (100 mg/kg), 2) metformina (200 mg/kg) y 3) vehículo (Tween 80 al 10%) respectiva y diariamente para cada grupo, durante 15 días. Se monitoreó la glucosa plasmática en los días 1, 3, 6, 9, 12 y 15, antes de la administración diaria (G_0) y 5 horas posteriores a ésta (G_5). Los animales se mantuvieron en condiciones de bioterio, con alimento y agua *ad libitum*. Los animales de cada grupo se pesaron durante los días de tratamiento para su posterior análisis con respecto al peso inicial.

6.6.4 Análisis del perfil de glucosa y lípidos

Al término del ensayo antidiabético subagudo se anestesió a los animales con pentobarbital sódico (NOM-062-ZOO-1999) y se obtuvo sangre por punción cardiaca en tubos sin anticoagulante que posteriormente se centrifugaron a 3500 rpm x 10 min, logrando separar el suero. Posteriormente, en colaboración con la Biól. del Centro Médico UAEM se determinaron los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL y LDL, mediante kits comerciales para métodos enzimáticos fotolorimétricos de los laboratorios Wiener de México.

ANÁLISIS DE DATOS

Para construir las gráficas y analizar estadísticamente los datos se empleó Graphpad Prism v. 9 y ANOVA de dos vías, $p < 0.05$, con un análisis *post-hoc* de Bonferroni.

6.7 Determinación de la toxicología

6.7.1 Ensayo de toxicidad aguda

Como modelo, se utilizó el establecido en la guía número 423 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD), con algunas modificaciones (OECD, 2001). Se formaron 4 grupos de ratones CD1 (n=3) y se sometieron a un ayuno de 8 horas. Posteriormente se administró el extracto de prueba a las dosis de 5, 50, 300 y 2000 mg/kg y se mantuvo a los animales bajo observación, especialmente las primeras 4 horas, y extendiendo el monitoreo hacia los 14 días en total. Se determinó el número de muertes y los cambios físicos y/o conductuales observados post-administración. Con base en los resultados obtenidos, el extracto fue clasificado de acuerdo con el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA).

6.7.2 Ensayo de toxicidad subcrónica

Este estudio se realizó siguiendo las recomendaciones de la guía 407 de la OECD con algunas modificaciones (OECD, 2008). Dos grupos de ratones macho CD1 se mantuvieron en ayuno previo al experimento durante 8 horas. Posteriormente, se administró vía i.g. diariamente, durante 28 días y a la misma hora, con vehículo (aceite de almendras/agua en proporción 80:20%) y extracto de prueba (100 mg/kg), respectivamente. Los ratones se pesaron al inicio, durante y posterior al experimento, además, se observó el comportamiento de ambos grupos. El día 29 del experimento se anestesiaron los ratones con pentobarbital sódico para obtener sangre mediante punción cardiaca, de la que posteriormente se determinaron los niveles de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT). Después, se extrajeron los principales órganos metabolizadores (hígado, corazón y riñón) por disección abdominal. Los tejidos se fijaron con formaldehído al 10% para la histología correspondiente.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Evaluación de los extractos hidroalcohólicos de *T. hirta*

Durante el 2019 se comprobó la actividad antihiper glucémica y antidiabética del EHiAth (Aldana, 2019), por lo que surgieron perspectivas para ahondar en su investigación antidiabética y toxicológica. Esto supuso el requerimiento de mayor cantidad de material vegetal para la obtención de extracto nuevo y llevar a cabo las evaluaciones pertinentes. Sin embargo, la colecta de las ramas se vio afectada por la tala de la especie para su uso tradicional, permitiendo únicamente la colecta de la corteza que se desprende naturalmente del tronco. De este material vegetal se obtuvo el EHiAth-CT.

7.1.1 Cromatografías en placa fina:

Con la finalidad de comparar cualitativamente los compuestos presentes en el EHiAth y el EHiAth-CT se realizó una cromatografía en placa fina que posteriormente se reveló con luz UV (Figura 1). A partir de las características de las franjas observadas, se concluye que los extractos no contienen los mismos compuestos. A pesar de esto, se decidió analizarlos mediante curvas de tolerancia a la glucosa para verificar su comportamiento con respecto a los niveles de glucemia en ratas.

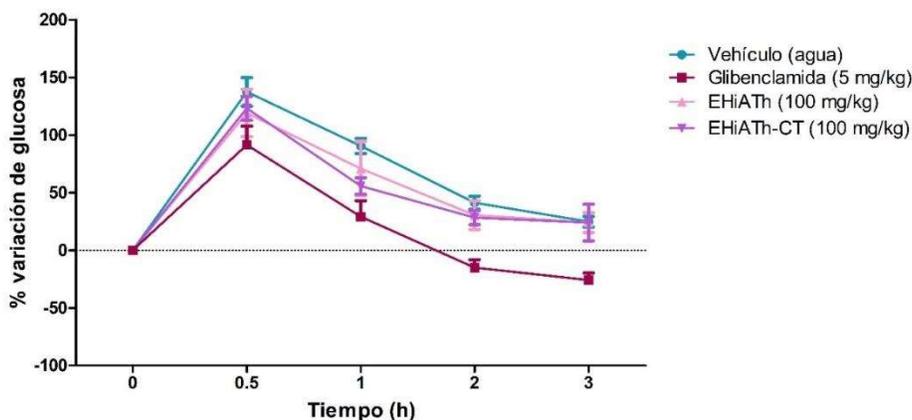


Figura 12. Cromatografía en capa fina de los extractos EHiAth (A) y EHiAth-CT (B), observada bajo luz UV-Visible a onda larga

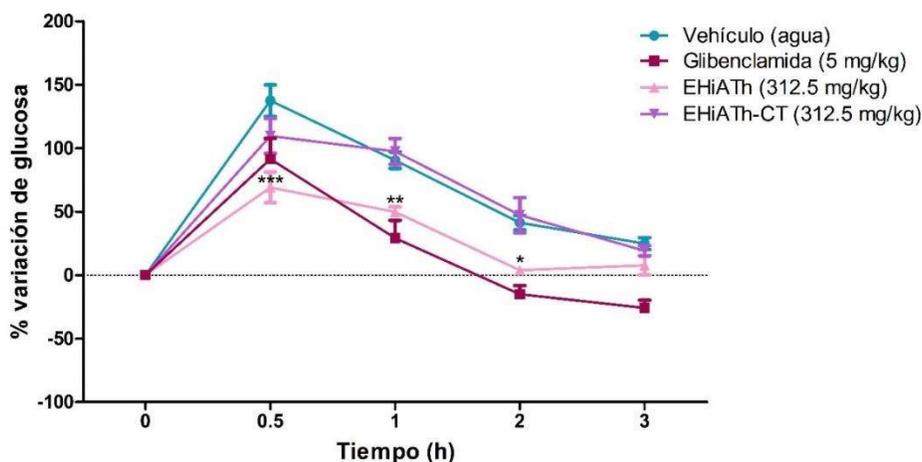
7.1.2 Curvas de tolerancia a la glucosa (CTG) del EHiATH y EHiATH-CT

Las CTG permiten observar los efectos preliminares de los extractos sobre la glucemia posterior a la administración de una carga de glucosa. Estos resultados se expresan en gráficas de porcentaje de variación de glucosa (%) con respecto al tiempo (h).

En la Gráfica 1 se muestra el comportamiento del EHiATH y EHiATH-CT evaluados a una dosis de 100 mg/kg. Se observa que ninguno de los extractos disminuyó significativamente la glucemia con respecto al vehículo en todos los tiempos evaluados, por lo que se realizó una nueva CTG aumentando la dosis en 1/2 logaritmo. En contraste, en la CTG a dosis aumentada (312.5 mg/kg) sí se observó disminución significativa de la glucemia por parte del EHiATH, a la hora 0.5, 1 y 2 con respecto al vehículo (Gráfica 2), sin embargo, el EHiATH-CT nuevamente no presentó efecto antihiper glucémico.



Gráfica 1. Ensayo de tolerancia a la glucosa de los extractos hidroalcohólicos de corteza de ramas (EHiATH) y del tronco (EHiATH-CT) de *T. hirta* (100 mg/kg), vehículo (agua) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas. Los valores de cada punto representan el error estándar promedio (\pm EEM).



Gráfica 2. Ensayo de tolerancia a la glucosa de los extractos hidroalcohólicos de corteza de las ramas (EHiATH) y del tronco (EHiATH-CT) de *T. hirta* (312.5 mg/kg), vehículo (agua) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas. Los valores de cada punto representan el error estándar promedio (\pm EEM). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ comparado con el vehículo.

Con base en las gráficas y la cromatografía de ambos extractos, se sugiere que el EHiATH-CT carece de los compuestos responsables de disminuir la glucemia, que, por otro lado, sí se encuentran presentes en el EHiATH, a pesar de provenir del mismo ejemplar. En este sentido, es posible que los compuestos contenidos en la corteza de las ramas se degraden a medida que la corteza envejece y comienza a engrosarse para formar parte del tronco.

Además, el requerimiento de una dosis mayor para observar el efecto del EHiATH podría deberse a la degradación de los compuestos presentes en el extracto, considerando que su preparación se llevó a cabo en marzo del 2019.

7.2 Evaluación de los extractos obtenidos de *A. mexicana*

7.2.1 Análisis fitoquímico preliminar

Las cromatoplasmas de los extractos EHAM, EDAM, EMAM se revelaron con una lámpara de luz UV a onda larga y onda corta. A onda larga se observó una gran variedad de bandas de colores fluorescentes presentes en los tres extractos, mientras que a onda corta fue posible observar bandas oscuras en los tres extractos y dos bandas amarillas características en el EHAM y el EDAM (Figura 2).

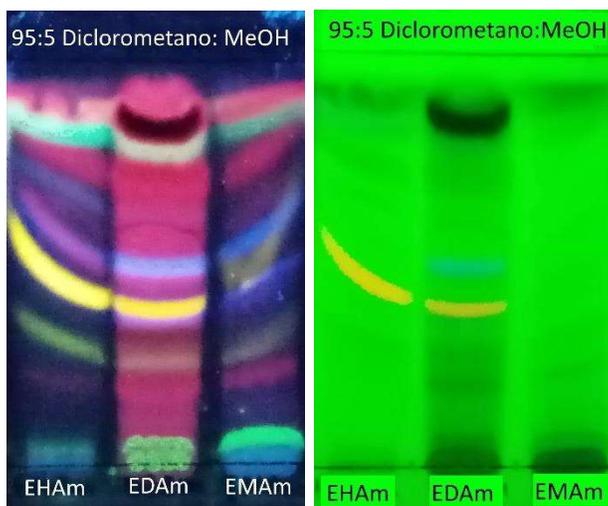


Figura 13. Cromatografía en capa fina de los extractos EHAM, EDAM y EMAM, observada bajo luz UV a onda larga (izquierda) y onda corta (derecha).

Con el objetivo de conocer la fitoquímica preliminar de los extractos, se revelaron cromatografías con sulfato sérico amoniacal, vainillina, cloruro férrico y reactivo de Dragendorff (Figura 3).

El sulfato cérico es un revelador universal utilizado para identificar cualitativamente la presencia de grupos oxidables, tales como los alcaloides. En la placa revelada con sulfato cérico de la Figura 3 se pueden observar diversas bandas de color marrón en los tres extractos, siendo más predominantes en el EHAM y EDAM. Además, este revelador también es útil en la identificación de compuestos triterpénicos, dando una coloración violeta característica, sin embargo, no se observan bandas con esta coloración, por lo que se sugiere que no hay compuestos de tipo triterpeno en los extractos (Firdous *et al.*, 1999).

Vainillina es otro revelador universal utilizado para identificar principalmente fenoles y esteroides. Los colores de las bandas pueden ser violeta, azul, rojo, gris o verde. En la placa revelada con este reactivo se observaron algunas bandas de color violeta en los extractos EHAM y EDAM, además de una banda de color verde presente en el EDAM (Figura 3) (Méndez *et al.*, 2006). Por otro lado, el revelado con cloruro férrico (FeCl_3) resulta útil para la identificación cualitativa de compuestos fenólicos, donde las bandas se tornan de verdes a marrón para derivados de catecol, y de color azul para derivados de pirogalol (Guillermo, 2002). En la placa revelada con FeCl_3 de la Figura 3 se puede observar una banda característica de color verde en el EDAM, a la misma altura que la observada de color verde en la placa revelada con vainillina, por lo que se confirma la presencia de fenoles en el EDAM.

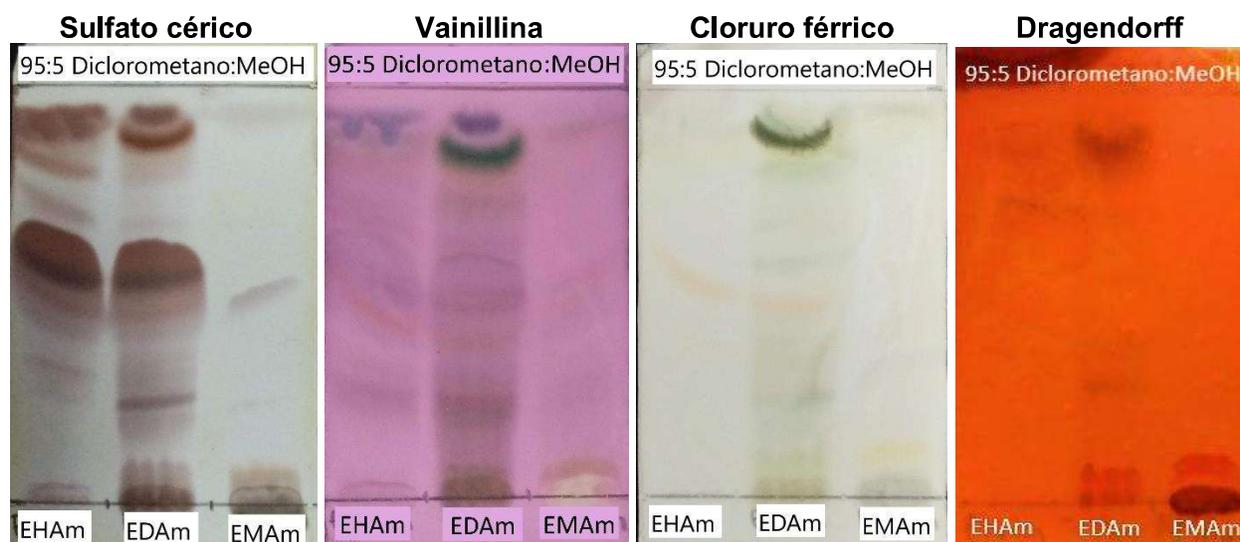


Figura 14. Cromatografías en capa fina de los extractos EHAm, EDAm y EMAm, revelados con (de izquierda a derecha) sulfato cérico amoniacal, vainillina, cloruro férrico y reactivo de Dragendorff.

La presencia de alcaloides puede detectarse empleando el reactivo de Dragendorff, por la formación de un precipitado rojizo entre el reactivo y los alcaloides (Coy *et al.*, 2014). La última placa de la figura 3 se reveló con dicho reactivo, donde se observan bandas rojizas en los tres extractos, sin embargo, la más notoria es la observable en el EDAm. Esto coincide con lo descrito acerca de *A. mexicana* en la literatura, donde se presume que la mayoría de los compuestos que se han logrado aislar de la especie pertenecen a la clase de los alcaloides (Brahmachari *et al.*, 2013).

Prueba de Liebermann-Burchard

Pequeñas muestras de extracto fueron disueltas en 0.5 ml de cloroformo, para posteriormente añadir 0.5 ml de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico. En la Figura 4 se puede apreciar el antes y después de la reacción con los extractos y colesterol como control positivo. El EHAm y el EDAm adquirieron un color verdeazulado, lo que indica la presencia de compuestos de tipo esterooidal y triterpénicos (Guillermo, 2002).



Figura 15. Prueba de Liebermann-Burchard antes de agregar H_2SO_4 (izquierda) y después (derecha) aplicada a los extractos obtenidos de *A. mexicana*. Se utilizó colesterol como control positivo.

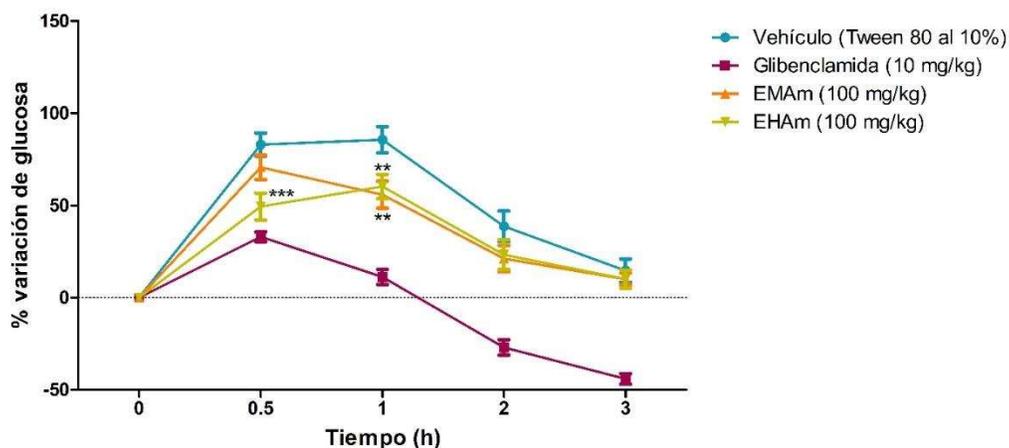
7.2.3 Curvas de tolerancia a la glucosa del EHAM, EDAm y EMAM

En la Gráfica 3 se observa la actividad antihiper glucémica del EHAM y EMAM, siendo EHAM el único capaz de disminuir significativamente el pico hiper glucémico a la hora 0.5, por lo que es posible que el extracto esté asociado a mecanismos extrapancreáticos, como la inhibición de transportadores y cotransportadores de glucosa. Asimismo, el EHAM es capaz de mantener esta disminución significativa hasta la hora 1, por lo que también se sugiere la participación de mecanismos insulinosensibilizadores (Guzmán, 2015).

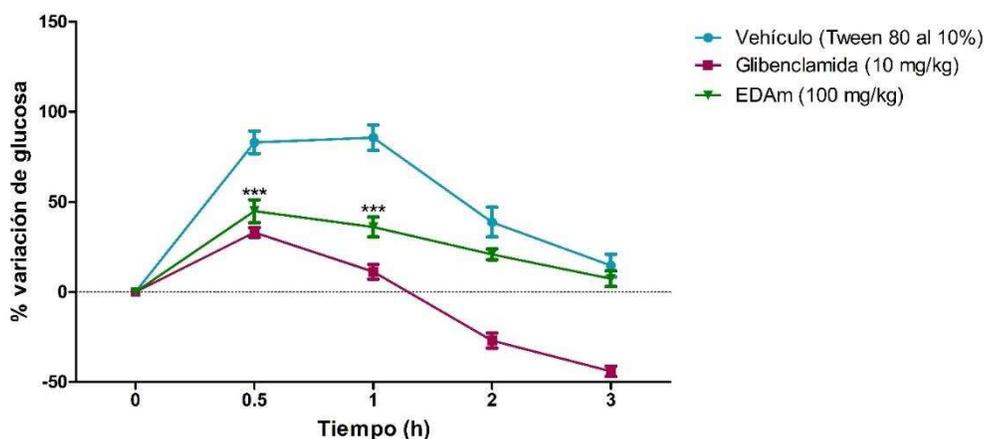
Respecto al EMAM, podemos observar que a pesar de no disminuir el pico hiper glucémico característico de la hora 0.5, sí disminuye significativamente la glucemia a la hora 1, por lo que es posible asociar al extracto con mecanismos insulinosensibilizadores (Guzmán, 2015).

Por otro lado, se sugiere que el EDAm también esté asociado a mecanismos extrapancreáticos e insulinosensibilizadores debido a su efecto observado en la Gráfica 4, donde la disminución significativa del pico hiper glucémico a la hora 0.5 y su efecto sostenido en la disminución de la glucemia fueron destacables (Chávez, 2019).

Con base en los resultados obtenidos en las CTG, se seleccionó al EDAm para proseguir con las evaluaciones antidiabéticas y toxicológicas.



Gráfica 3. Ensayo de tolerancia a la glucosa de los extractos hexánico (EHAm) y metanólico (EMAm) de *A. mexicana*, vehículo (Tween 80 al 10%) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas. Los valores de cada punto representan el error estándar promedio (\pm EEM). $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ comparado con el vehículo.

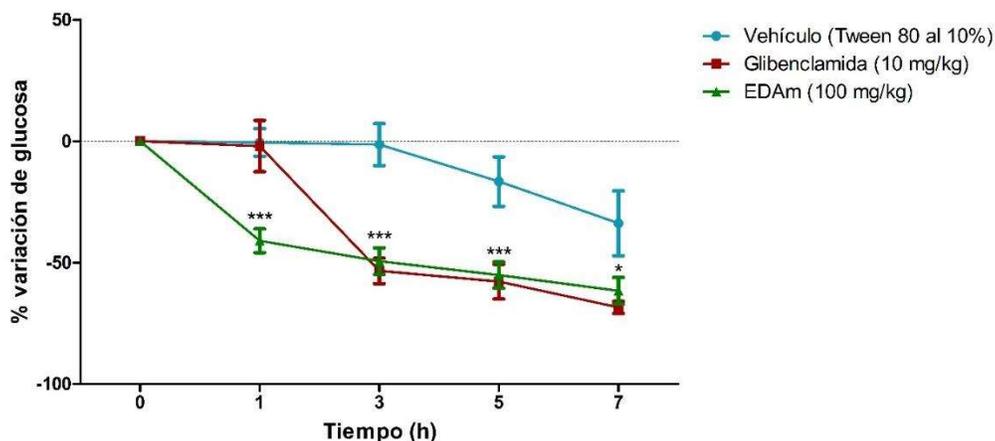


Gráfica 4. Ensayo de tolerancia a la glucosa del extracto diclorometánico (EDAm) de *A. mexicana*, vehículo (Tween 80 al 10%) y glibenclamida, administrados vía i.g. en ratas normoglucémicas. Los valores de cada punto representan el error estándar promedio (\pm EEM). $***p < 0.001$ comparado con el vehículo.

7.2.4 Ensayo antidiabético agudo

En la gráfica 5 se muestran los resultados de porcentaje de variación de glucosa a las 1, 3, 5 y 7 horas posteriores a la administración vía i.g. del extracto, donde se aprecia la disminución significativa de la glucemia a todas las horas monitoreadas posteriores a la administración de EDAm, con respecto al vehículo. El extracto mostró un comportamiento similar al del fármaco glibenclamida, utilizado como control positivo por su conocido mecanismo de acción secretagogo de insulina, por lo que, además de los mecanismos extrapancreáticos e insulinosensibilizadores,

también se sugiere que EDAm actúe mediante la participación de mecanismos pancreáticos (Chávez *et al.*, 2017).

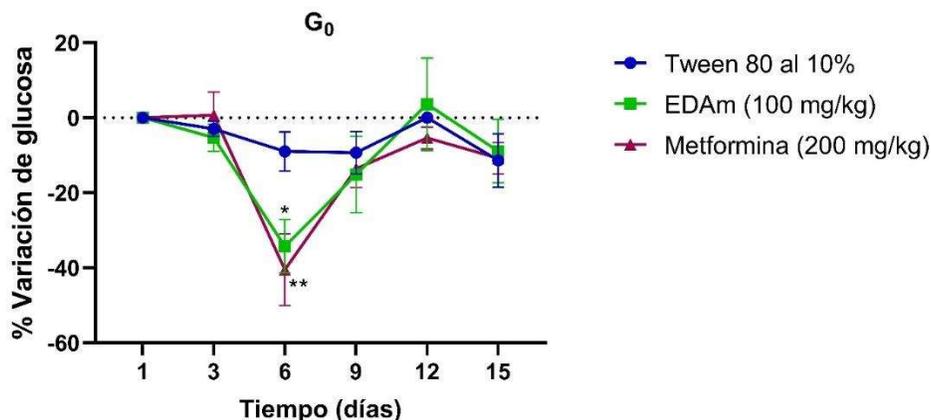


Gráfica 5. Ensayo antidiabético agudo del extracto diclorometánico (EDAm) de *A. mexicana* en un modelo DENID en rata. Los valores de cada punto representan el \pm EEM. *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ comparado con el vehículo.

7.2.5 Ensayo antidiabético subagudo

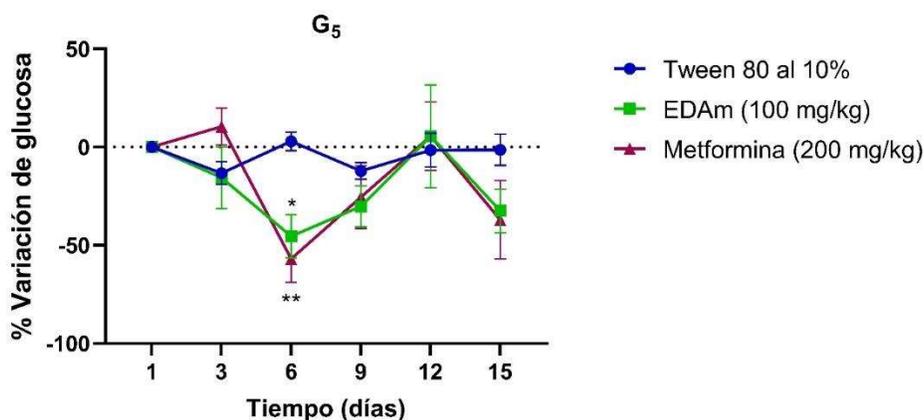
Debido a la naturaleza crónica de la diabetes, se requiere de la administración de fármacos por tiempos prolongados para mantener estables los niveles de glucosa plasmática. En este sentido, el ensayo antidiabético subagudo es una buena aproximación para demostrar la actividad antidiabética del EDAm durante su administración a mediano plazo en un modelo animal.

El monitoreo de la glucosa a través de los días se realizó antes de la administración del EDAm (G0) para analizar si el extracto disminuye la hiperglucemia 24 horas post-administración o si impide que la enfermedad progrese. Debido a que las mediciones se realizaron sin ayuno previo, en la gráfica 6 se observa que existe mucha variabilidad entre los datos obtenidos, sin embargo, el comportamiento del extracto se observa similar al del grupo tratado con metformina, disminuyendo significativamente la glucosa al día 6.



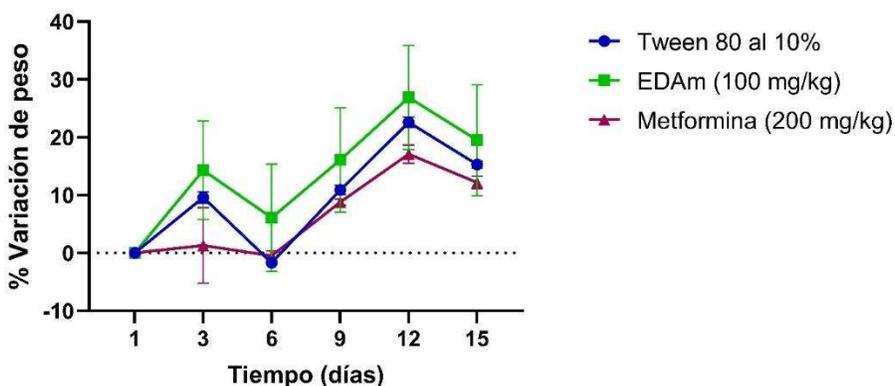
Gráfica 6. Variación en la glucemia antes (G₀) de la administración oral subaguda del EDAm (100 mg/kg), Tween 80 al 10% y metformina (200 mg/kg) en un modelo DENID en rata, durante 15 días. Cada grupo representa el \pm EEM. **p < 0.01, *p < 0.05 comparado con el vehículo.

Además, se realizó el seguimiento de glucosa 5 horas post-administración del EDAm (G₅) para analizar si existía un mayor control sobre la glucemia después del tratamiento continuo con el extracto. La disminución significativa de la glucosa se observó de manera similar a la gráfica anterior, durante el día 6, donde el EDAm mostró una conducta similar al del control de metformina (Gráfica 7), comprobando que el extracto es capaz de regular el metabolismo de glucosa.



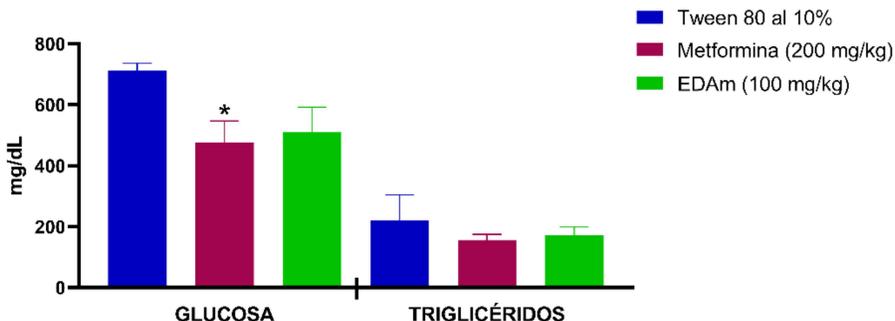
Gráfica 7. Variación en la glucemia después (G₅) de la administración oral subaguda del EDAm (100 mg/kg), Tween 80 al 10% y metformina (200 mg/kg) en un modelo DENID en rata, durante 15 días. Cada grupo representa el \pm EEM. **p < 0.01, *p < 0.05 comparado con el vehículo.

Por otro lado, la gráfica 8 muestra el seguimiento del peso de los grupos empleados en el ensayo subagudo, donde no se observó un cambio significativo entre los pesos de los animales. Metformina es un fármaco conocido por utilizarse en el tratamiento de pacientes diabéticos con obesidad debido a que posee un efecto de disminución del peso corporal, no obstante, este efecto es observable a partir de la semana 5 de tratamiento consecutivo, lo que explica que dicho comportamiento no se vea reflejado en los resultados.

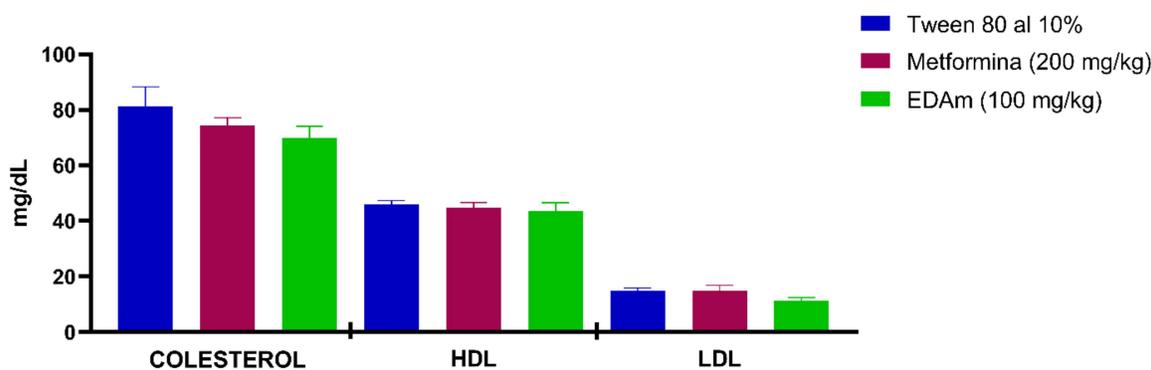


Gráfica 8. Variación en el peso tras la administración i.g. del EDAm (100 mg/kg), Tween 80 al 10% y metformina (200 mg/kg) en un modelo DENID en rata, durante 15 días.

Después de concluir el tratamiento se extrajeron muestras de sangre por punción cardiaca para realizar el perfil bioquímico y de esta manera analizar si existían cambios en los niveles totales de glucosa, triglicéridos, colesterol, HDL y LDL. Como se observa en la gráfica 9, no se presentó una disminución significativa de la glucemia ni de los triglicéridos por parte del EDAm con respecto al vehículo. Por otro lado, en la gráfica 10 tampoco se observó la presencia de una disminución importante de los niveles de colesterol, HDL y LDL, lo que implica que el extracto no influye en la mejora del metabolismo de lípidos.



Gráfica 9. Perfil de glucosa y triglicéridos post-administración subaguda del EDAm (100 mg/kg), vehículo (Tween 80 al 10%), metformina (200 mg/kg), en el modelo DENID en ratas.



Gráfica 10. Perfil de colesterol, HDL y LDL post-administración subaguda del EDAm (100 mg/kg), vehículo (Tween 80 al 10%), metformina (200 mg/kg), en el modelo DENID en ratas.

7.2.6 Evaluaciones toxicológicas

Los ensayos de toxicidad son útiles para predecir o determinar los posibles efectos adversos que puedan experimentar los humanos al exponerse a ciertas sustancias químicas de manera aguda o crónica (Meyer, 2003). En materia de los productos naturales, existe la falsa creencia de que lo natural carece de toxicidad o no genera efectos adversos, a pesar de que existen bases científicas que prueban que las plantas también pueden presentar dichos efectos (Athmouni *et al.* 2018), por lo que, se volvió de suma importancia establecer la seguridad del extracto más activo. De esta manera, se plantearon las evaluaciones toxicológicas aguda y subcrónica del EDAm.

7.2.6.1 Toxicidad aguda

Para evaluar la toxicidad del EDAm se realizó el ensayo de toxicidad aguda acorde con el apartado 423 de la OECD, que permite determinar el rango de DL₅₀ de la sustancia a evaluar, de manera que se pueda clasificar de acuerdo con las categorías que describe el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA) (Schlede *et al.* 2005).

En la tabla 6 se presentan los resultados de mortalidad obtenidos durante el experimento, a cada una de las dosis evaluadas del EDAm. Así, el extracto pudo clasificarse en la categoría 3, con la leyenda "tóxico en caso de ingestión", dado que a la dosis de 300 mg/kg no hubo mortalidad, no obstante, la toxicidad se presentó a la dosis de 2000 mg/kg en forma de piloerección, diarrea y alteraciones en la motricidad de los ratones a las dos horas post-administración del EDAm, además, 4 horas después del experimento se presentó el 100% de mortalidad en el grupo evaluado.

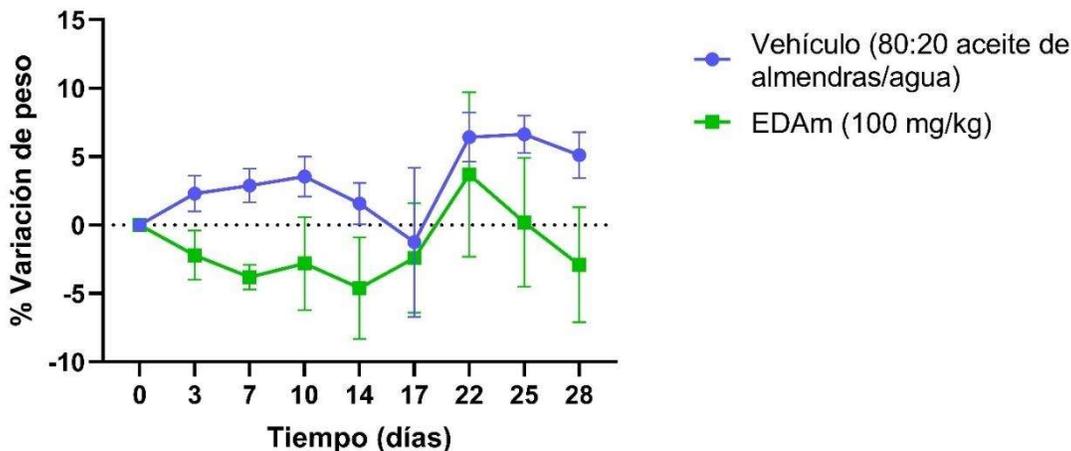
Tabla 6. Ensayo de toxicidad aguda.

Dosis (mg/kg)	Mortalidad	Clasificación (SGA)	Símbolo
5	0	Categoría 3 "Tóxico en caso de ingestión"	
50	0		
300	0		
2000	100%		

7.2.6.2 Toxicidad subcrónica

Los ensayos de toxicidad subcrónica aportan información de los efectos tras la administración de algún xenobiótico a cierta dosis durante un tiempo prolongado (28 días). Para determinar dichos efectos, se llevó a cabo un análisis histológico de los principales órganos metabolizadores (hígado, corazón y riñón), acompañado de la determinación de parámetros bioquímicos relacionados al daño en las funciones hepática y cardiaca (determinación de las enzimas ALT y AST) (Moreira *et al.*, 2014).

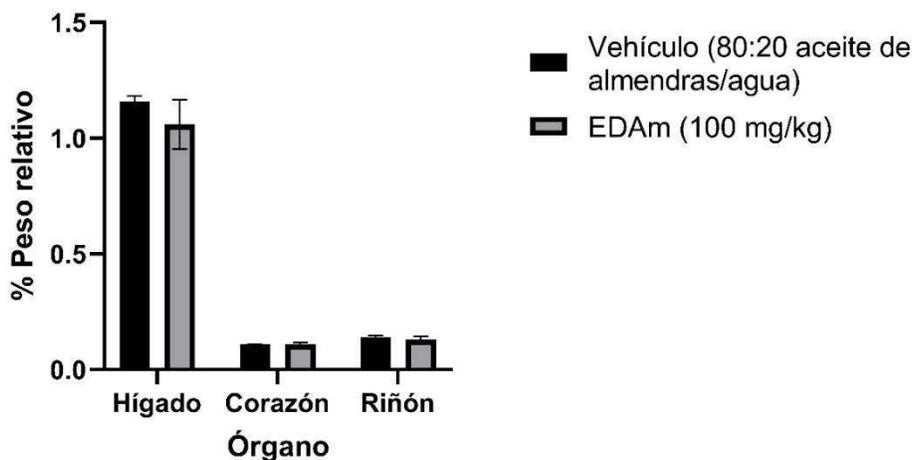
La gráfica 11 refleja el porcentaje de variación del peso de los ratones tratados con EDAm a 100 mg/kg vs. el grupo vehículo, donde no se observó diferencia significativa entre ambos grupos.



Gráfica 11. Variación en el peso de los ratones tratados con EDAm vs. los tratados con vehículo durante 28 días de tratamiento.

Respecto a los cambios en el comportamiento animal, a través del experimento se observó agresividad en los ratones y la oposición a la administración del extracto, que se acentuaron más conforme avanzaban los días del tratamiento, además, se observó la evacuación de heces blandas y piloerección en todos los ejemplares del grupo tratado con EDAm, efectos que se vieron acompañados por una notoria degeneración progresiva.

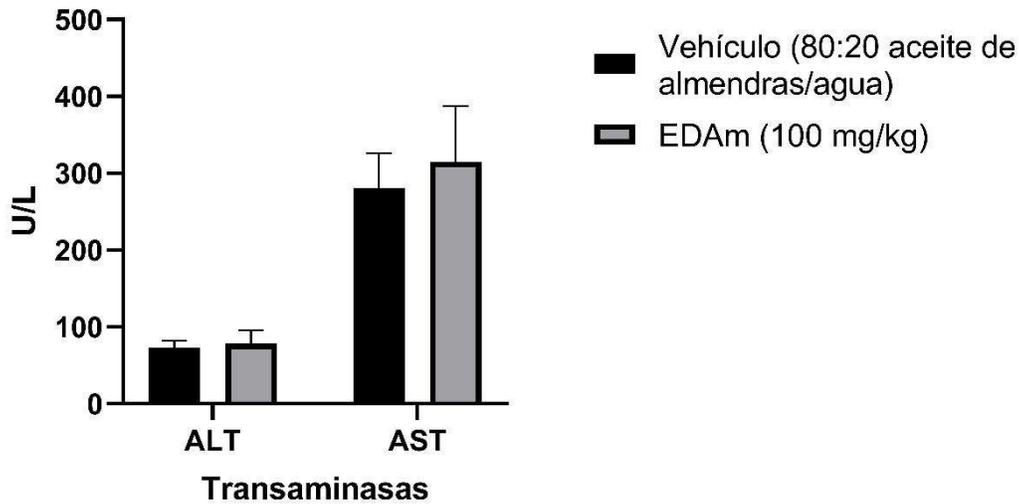
Por otro lado, se determinó la variación de peso de los órganos metabolizadores como indicador de la posible toxicidad generada por el extracto (Rosidah *et al.*, 2006), sin embargo, se encontró que no hubo cambios considerables en el peso de los órganos del grupo tratado con EDAm vs. el grupo vehículo (Gráfica 12).



Gráfica 12. Variación de peso relativo de los principales órganos metabolizadores tras 28 días de tratamiento.

El hígado es uno de los principales órganos encargados de la detoxificación del organismo por medio del metabolismo de xenobióticos (Adeneye *et al.*, 2006), por lo que, para determinar si EDAm estaba generando algún tipo de daño o alteraciones a nivel hepático tras la administración consecutiva, se evaluaron los niveles de aspartato aminotransferasa (AST) y alanino aminotransferasa (ALT), que suelen ser buenos marcadores para la presencia de daño hepático. Al ser enzimas que se encuentran en el interior de los hepatocitos, si se produce un daño en dichas células, AST y ALT son liberadas al torrente sanguíneo y sus niveles plasmáticos se incrementan (Athmouni *et al.*, 2018).

Los valores de transaminasas observados en la Gráfica 13 no tuvieron cambios significativos vs. el vehículo y, además, los valores para ALT se encuentran dentro del rango normal para ratones de la cepa CD1 (28-184 U/L), sin embargo, los valores obtenidos de AST son mayores a los normales tanto para el grupo tratado como el vehículo, con base en lo reportado por Kaneko (1989), donde se estableció el rango de 55-251 U/L para AST en ratones CD1.



Gráfica 13. Valores de transaminasas (ALT y AST) después de 28 días de tratamiento.

Por otro lado, para determinar la presencia de daño celular por parte del extracto, se analizaron las micrografías obtenidas, donde se observó la integridad de las células con núcleos definidos y membranas normales. No se observó la presencia de infiltración celular ni procesos necróticos en el corazón, hígado y riñón (Figura 16).

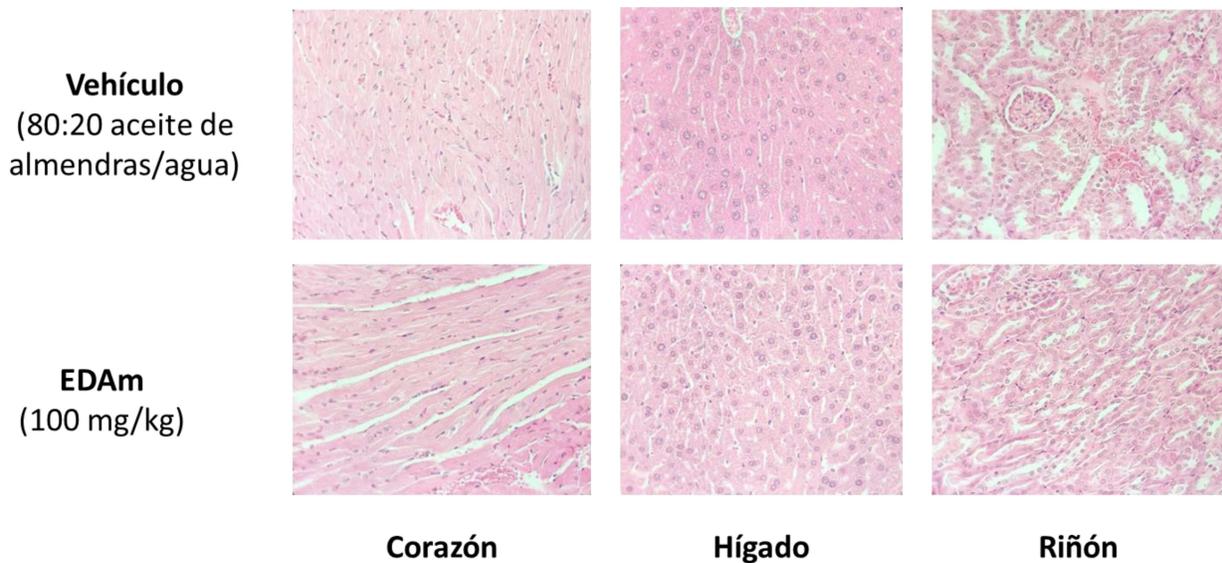


Figura 16. Micrografías de los principales órganos metabolizadores del grupo vehículo vs. el grupo administrado con EDAm (100 mg/kg) de manera subcrónica. Tinción de hematoxilina-eosina.

8. CONCLUSIONES

EHiATH y EHiATH-CT no presentaron actividad antihiper glucémica a una dosis de 100 mg/kg, sin embargo, la disminución de la glucemia por parte del EHiATH sí fue observable a la dosis de 312.5 mg/kg.

De los extractos obtenidos de *A. mexicana*, EDAm destacó al mostrar mayor efecto antihiper glucémico en las CTG y efecto antidiabético durante los ensayos en el modelo DENID de manera aguda y subaguda. Es posible que EDAm actúe a nivel de mecanismos insulinosensibilizadores y/o secretagogos de insulina, lo que hace al extracto un blanco posible para la búsqueda de fármacos que contribuyan al tratamiento de la DT2.

Se sugiere que la DL_{50} del EDAm está situada entre los 300 y 2000 mg/kg, sin embargo, es necesario ahondar en la investigación acerca de su toxicidad antes de poder establecer la DL_{50} .

A pesar de observar cambios conductuales asociados a toxicidad en los animales, no hubo diferencia significativa en la variación del peso de éstos ni de los órganos metabolizadores, además, los valores de transaminasas y las micrografías obtenidas se observaron normales.

9. PERSPECTIVAS

1. Determinar el efecto antidiabético subagudo y la toxicidad subcrónica del EHiATh en un modelo DENID en rata.
2. Realizar el estudio fitoquímico del EHiATh y llevar a cabo ensayos in vivo para determinar su actividad antidiabética.
3. Obtener los compuestos responsables del efecto antidiabético del EDAm durante su estudio fitoquímico.
4. Establecer el potencial efecto antihiper glucémico y antidiabético de los compuestos aislados del EDAm.
5. Establecer la DL₅₀ del EDAm.

10. REFERENCIAS

- Acosta, E. (2012). *Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina*. Acta Bioquím Clín Latinoam, 46(2), 183-194.
- Adeneye, A, Ajagbonna, O., Adeleke, T., Bell, S. (2006). *Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem barks aqueous extract of Musanga cecropioides in rats*. J. Ethnopharmacol. 105. 374-376.
- Aldana, D. (2019). *Determinación del efecto antidiabético y estudio toxicológico agudo de Trichilia hirta en modelos murinos*. Tesis de licenciatura. Facultad de Farmacia, UAEM.
- ADA (2022). *Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes*. Diabetes Care., 45(1), S17-S38. <https://doi.org/10.2337/dc22-S002>
- ADA. (2022). *Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes*. Diabetes Care, 45(1): S125-S143. <https://doi.org/10.2337/dc22-S009>
- Alcántara, V., Pérez, A. (2016). *Tratamiento de la diabetes mellitus (I)*. Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 12(18), 1001–1012. <https://doi.org/10.1016/j.med.2016.09.010>
- Athmouni, K., El Feki, A., Ayadi, H. (2018). *Hepatotoxic effects of Eupholrich fractions from Euphorbia bivonae-Relevance to cytotoxic and antitumor activities*. Pathophysiology.
- Aylwin, C. (2016). *Nuevos fármacos en diabetes mellitus*. RMCLC, 27(2), 235-256.
- Bastarrachea, R., Laviada, H., Machado, I., Kent, J., López, J., Comuzzle, A. (2005). *El receptor de insulina como objetivo farmacogenómico: potenciando su señalización intracelular*. 13(4), 180-189.
- Brahmachari, G., Gorai, D., Roy, R. (2013). *Argemone mexicana: chemical and pharmacological aspects*. Rev. bras. farmacogn. 23(3): 559-575.
- Cheatham, B., Kahn, R. (1995). *Insulin Action and the Insulin Signaling Network*. Endocrine reviews, 16(2), 118-122.
- Chávez, F. Cerón, L., Arias, L., Navarrete, G., Almanza, J., Román, R., Ramírez, G., Perea, I., Villalobos, R., Estrada, S. (2017). *Antidiabetic effect of Achillea millefolium through multitarget interactions: alfa-glucosidases inhibition, insulin sensitization and insulin secretagogue activities*. J ethnopharmacol, 212(2018), 1-7.
- Chávez, F. (2019). *Estudio farmacológico, toxicológico y químico preliminar de Achillea millefolium y Plantago australis como potenciales agentes antidiabéticos*. Tesis de doctorado. Facultad de Farmacia. UAEM.
- Coy, C., Parra, J., Cuca, L. (2014). *Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie Raputia heptaphylla (rutaceae)*. Revista elementos. 4, 33-35.
- Fern, K. (2014). *Trichilia hirta*. Tropical plants Database. Tomado de: tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Trichilia+hirta. Consultado en: sep 2019.
- FID (2021). *Atlas de la Diabetes de la FID*, Ed. 10, 9-57.

- Firdous, S., Dardass, A. K. Y., Khan, K. M., Usmani, S. B., Ahmad, V. U. (1999). *A new triterpenoid from the leaves of Salvia triloba*. *Fitoterapia*, 70(3), 326-327.
- Germán, M. (2007). *Flora de Guerrero. No. 31. MELIACEAE*. Facultad de ciencias. UNAM. 32-36.
- Gomes, R., De Paulo, L., Bonato, C., Neves, C., Cordeiro, B., Zanoni, J., Francisco, F., Piovan, S., De Freitas, P., Longhini R., De Mello, J., De Oliveira, J., Pedrino, G., Da Silva, A., Cecchini, A., Marçal, M. (2017). *Anti-Diabetic Effects of the Ethyl-Acetate Fraction of Trichilia catigua in Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetic Rats*. *Cell Physiol Biochem*, 42, 1087-1097.
- Gual, M. (2018). *Taxonomía de los usos y manejo de la biodiversidad de México para la construcción de sistemas de información*. CONABIO, 160-163.
- Guillermo, R. (2002). *Comprobación del efecto cicatrizante de Peperomia scutellaefolia R. et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico*. Tesis de licenciatura. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM.
- Guzmán, R. (2015). *Obtención y evaluación del efecto antidiabético de algunos derivados de ácido ursólico*. Tesis de maestría. Facultad de Farmacia, UAEM.
- Hernández, E., Mora, N., Morris, H., Delgado, L., Martínez, C. (2013). *Actividad citotóxica de extractos acuosos de hojas de Trichilia hirta sobre células tumorales humanas*. *Rev Cuba Investig Bioméd*, 32(1), 93-101.
- INEGI. (2022). *Estadística de defunciones registradas de enero a junio de 2021 (preliminar)*. Comunicado de prensa 24/22, 1-13.
- Kaneko, J. (1989). *Clinical chemistry of domestic animals*. s.l.: Academic Press.
- Malgor, L., Valsecia, M.E. (2000). *Farmacología médica*. 3, Cap. 25.
- Mateos, N., Zacarías, R. (2002). *Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus*. *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González*. 5(1-2), 33-41.
- McGarry, J., Dobbins, R. (1999). *Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion*. *Diabetologia* 42, 128-138.
- Monroy-Ortíz, C., España, P. C. (2007). *Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos*.
- Méndez, M., Ramírez, J. (2006). *Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto diclorometánico de la goma-resina de Eucalyptus citriodora (eucalipto)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Química y Farmacia. UAES.
- Meyer, O. (2003). *Testing and assessment strategies, including alternative and new approaches*. *Toxicology letters*. 140, 21-30.
- Moreira, D., Teixeira, S., Monteiro, M. De-Oliveira, A., Paumgarten, F. (2014). *Traditional use and safety of herbal medicines*. *Rev. bras farmacogn*. 24. 248-257.

- Nayak, P., Kar, D., Maharana, L. (2011). *Antidiabetic activity of aerial parts of argemone mexicana linn. In alloxan induced hyperglycaemic rats*. Pharmacologyonline 1, 889-903.
- Nayak, P., Kar, D., Nayak, S. (2012). *Antidiabetic activity and modulation of antioxidant status by fractions of Argemone mexicana in alloxan induced diabetic rats*. 6(4), 321-329.
- OECD. (2001). *Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method*. OECD Publishing
- OECD. (2008). *Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents*. OECD Publishing
- OMS (2022). *Enfermedades no transmisibles*. Tomado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>. Consultado en: sep 2021.
- OMS (2022). *Diabetes*. Tomado de: https://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/. Consultado en: abr 2021.
- Ortega, L., Narváez, A., Del Castillo, L. (2005). *Principales alteraciones de homeostasis en la Diabetes Mellitus*. RFSC, 2(2), 160-165.
- Osorio, I., Salceda, R. (2012). *Control hormonal de la homeostásis energética: de la célula al cerebro*. REB, 31(2), 41-48.
- Pereira, S., Vega, D., Almeida, M., Morales, G. (2009). *Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la Trichilia hirta L.* Química Viva, 8(3), 192-199.
- Pérez, I. (2008). *El uso de las plantas medicinales*. Revista intercultural, UV-I, 23-26.
- Pérez, F. (2009). *Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2*. REV. MED. CLIN. CONDES. 20(5), 565-571.
- Rosidah, Y., Sadikun, A., Ahmad, M., Akowuah, G., Asmawi, M. (2009). *Toxicology evaluation of standardized methanol extract of Gynura procumbens*. J. Ethnopharmacol. 22. 244-249.
- Rout, S., Kar, D., Mandal, P. (2011). *Hypoglycaemic activity of aerial parts of argemone mexicana l. in experimental rat models*. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 3 (5), 539.
- Salazar, A., Sandoval, A., Armendáriz, J. (2013). *Biología molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*. McGraw-Hill Education, 207-210.
- Santillán, M. (2012). *El uso tradicional de las plantas medicinales, un triunfo para la ciencia*. DGDC-UNAM. Tomado de http://ciencia.unam.mx/leer/97/El_uso_tradicional_de_las_plantas_medicinales_un_aporte_para_la_ciencia. Consultado en: may 2020.
- Schlede, E., Genschow, E., Spielmann, H., Stropp, G., Kayser, D. (2005). *Oral acute toxic class method: A successful alternative to the oral LD50 test*. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 42, 15-23.
- SGA. (2011). *Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de productos químicos*. 4ta edición, Naciones Unidas.

Vibrans, H. (2009). Malezas de México, Argemone mexicana L. Tomado de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-mexicana/fichas/ficha.htm>. Consultado en: jun 2021.

Vieira, I., Da Silva, W., Dos Santos, M., Braz, R. (2014). *Secondary Metabolites of the Genus Trichilia: Contribution to the Chemistry of Meliaceae Family*. Am J Analyt Chem, 5, 91-121.

Vieira, I., Azevedo, De Aquino, O., De Souza, J., Braz, R., Dos Santos, M., De Araújo, M. (2013). *Hirtinone, a Novel Cycloartane-Type Triterpene and Other Compounds from Trichilia hirta L. (Meliaceae)*. Molecules, 18(3), 2589-2597. Vieira, V. (2014). *Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues*. Cell Microbiol, 16(10), 1484-1492.

Weiss, M., Steiner, D., Philipson, L. (2014). *Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure-Activity Relationships*. MDText.com, Inc. Tomado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279029/>. Consultado en: abr 2020.

Yaribeygi, H, Farrokhi, FR, Butler, AE, Sahebkar, A. (2018). *Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms*. J Cell Physiol, 234, 8152– 8161.