



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO,
ANTIHIPERTENSIVO Y ANTIASMÁTICO DE *Tagetes
lucida*”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN FARMACIA**

PRESENTA:

L.F. JOSÉ MARTÍN MUNDO CAMPUZANO

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA

Cuernavaca, Morelos

07/11/ 2023

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y la Facultad de Farmacia, por permitirme usar las instalaciones para realizar este proyecto, y por la formación académica brindada.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología por el apoyo a través de la beca de maestría (programa 001303), con número de apoyo 792532.

Al Dr. Samuel Enoch Estrada Soto por la dirección, por su tutoría académica, por su comprensión y dedicación otorgada durante todo este proceso y por permitirme ser parte de su equipo de trabajo en el laboratorio 10 de la Facultad de Farmacia, UAEM. Gracias por todo, es una gran persona y ejemplo a seguir.

Al Dr. Rafael Villalobos Molina por la codirección, y por su apoyo en sus aportaciones con sus enseñanzas y comentarios durante la realización de este proyecto.

Al Dr. Julio Almanza Pérez, Dra. Gabriela Alejandra Pérez Barrón, Dr. Rafael Villalobos Molina, Dr. Samuel Enoch Estrada Soto por brindarme sus comentarios y de esta manera complementar y enriquecer mi trabajo, así como formar parte de mi comité tutorial.

Al comité revisor: Dr. Rafael Villalobos Molina, Dra. Myrna Déciga Campos. Dr. Germán Bernal Fernández, Dra. Maria Crystal Columba Palomares y el Dr. Cairo David Toledano Jaimes, muchas gracias por sus comentarios y correcciones en la revisión de este manuscrito, lo cual mejoro de manera significativa este trabajo.

Agradezco mucho a Monserrat Hernández por ser quien me apoyo y me dio las bases para realizar el proyecto, por ayudarme y darme siempre consejos para complementar este trabajo con sus comentarios.

También les debo un enorme agradecimiento a mis amigos del laboratorio 10, tanto a los nuevos como a los que ya estaban. A Julia Solano, por brindarme su amistad y tiempo, eres una gran persona nunca cambies (tqm) y también a Emmanuel Gaona Tovar, Omara, Hugo y Armando. Así como también a Luis, Laura, Alan, Wilson, por apoyarme y darme siempre consejos y ayudarme a complementar este trabajo con sus comentarios.

A mí también amigo Carlos Vences Pedroza el “Don”, por brindarme también una amistad sincera, apoyarme en los momentos más difíciles y por ser una gran persona conmigo, lo aprecio mucho.

DEDICATORIAS

Principalmente a mis padres; Martín Mundo Cuevas y Balbina Campuzano Ocampo y a mis hermanos; José Ángel Mundo Campuzano, José Antonio Mundo Campuzano y María Fernanda Mundo Campuzano, que me apoyaron durante este proceso, que nunca dejaron de confiar en mí y apoyarme, ante todo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	15
ABSTRACT	17
1. INTRODUCCIÓN	19
2. ANTECEDENTES	20
2.1 Enfermedades Crónicas	20
2.2 Procesos químicos y mecánicos en la digestión de los alimentos	20
2.3 Captación de la glucosa	22
2.4 Procesos bioquímicos de conversión de energía en la célula	28
2.5 Definición de Diabetes	30
2.5.1 Clasificación de diabetes	30
2.5.2 Diabetes tipo 1 (DT1) (diabetes insulino dependiente)	31
2.5.3 Diabetes tipo 2 (DT2) (diabetes no insulino dependiente)	31
2.5.4 Diabetes gestacional (DG)	32
2.5.5 Otros tipos de diabetes	32
2.5.6 Epidemiología de la Diabetes	32
2.5.7 Complicaciones de la diabetes	35
2.5.8 Criterios para el diagnóstico de la diabetes	36
2.5.9 Señalización de Insulina	37
2.5.10 Resistencia a la Insulina	41
2.5.11 Tratamiento para la diabetes tipo 2	44
2.6 Hipertensión Arterial	46
2.6.1 Datos Epidemiológicos	46
2.6.2 Tipos de Hipertensión	47
2.6.3 Clasificación de hipertensión arterial	47
2.6.4 Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial	48
2.6.5 Tratamiento no farmacológico de la hipertensión arterial	49
2.7 Asma bronquial	49
2.7.1 Epidemiología del Asma	50
2.7.2 Clasificación del Asma	50

2.7.3	Mecanismo inmunológico del asma alérgica.....	51
2.7.4	Terapia farmacológica del asma	52
2.8	Cumarinas	53
2.8.1	Biosíntesis de Cumarinas.....	55
2.9	Planta medicinal <i>Tagetes lucida</i>	57
3.	JUSTIFICACIÓN.....	59
4.	HIPÓTESIS.....	60
5.	OBJETIVO GENERAL	60
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
7.	METODOLOGÍA	61
7.1	Recolección y preparación del material vegetal.....	61
7.2	Obtención del extracto etanólico.....	62
7.3	Estudio fitoquímico del precipitado etanólico de <i>Tagetes lucida</i>	62
7.4	Uso y manejo de animales de experimentación	63
7.5	Determinación del efecto antihiper glucémico del extracto y compuestos obtenidos a partir de <i>Tagetes lucida</i>	64
7.5.1	Equipo	64
7.5.2	Análisis estadístico de los datos	64
7.5.3	Evaluación Farmacológica <i>In vivo</i>	64
7.5.4	Curva de tolerancia a la glucosa	64
7.5.5	Curva de tolerancia a sacarosa	64
7.6	Evaluación Farmacológica <i>In silico</i>	65
7.6.1	Estudio de acoplamiento inverso (proteína-ligando) de los compuestos obtenidos sobre diferentes objetivos claves de la diabetes.	65
7.7	Determinación del efecto vasorrelajante del extracto y compuestos aislados de <i>Tagetes lucida</i>	66
7.7.1	Reactivos	66
7.7.2	Análisis estadístico.....	66
7.7.3	Sistema de registro.....	67
7.7.4	Obtención del tejido de aorta.....	67
7.7.5	Evaluación Farmacológica <i>In vitro</i>	68
7.7.6	Sistema de determinación del efecto vasorrelajante	68
7.7.7	Determinación del efecto vasorrelajante	68

7.8	Determinación del efecto traqueorrelajante del extracto y compuestos obtenidos de <i>Tagetes lucida</i>	69
7.8.1	Reactivos	69
7.8.2	Análisis estadístico.....	69
7.8.3	Obtención de la tráquea.....	69
7.8.4	Evaluación Farmacológica <i>In vitro</i>	69
7.8.5	Sistema de determinación del efecto traqueorrelajante, registro de datos.....	69
7.8.6	Evaluación del efecto traqueorrelajante	70
7.9	Evaluación Toxicológica	71
7.9.1	Toxicidad Oral Aguda	71
7.10	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	72
7.10.1	Obtención del extracto etanólico	72
7.10.2	Placas Cromatográficas.....	72
7.11	Evaluación Farmacológica <i>In vivo</i>	75
7.11.1	Curva de tolerancia a glucosa	75
7.11.2	Curva de tolerancia a sacarosa	76
7.11.3	Curva de tolerancia a glucosa con 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina, 7-metoxicumarina y 7-preniloxicumarina.....	78
7.11.4	Estudio de acoplamiento inverso (proteína-ligando) de los compuestos obtenidos sobre diferentes blancos claves de la diabetes.....	79
7.12	Determinación del efecto vasorrelajante del extracto y compuestos aislados de <i>Tagetes lucida</i> en anillos de aorta aislada de rata	83
7.13	Determinación del efecto traqueorrelajante del extracto y compuestos obtenidos de <i>Tagetes lucida</i>	86
7.14	Cromatografía en columna abierta (CC)	88
7.15	Elucidación Estructural	93
7.15.1	Precipitado.....	93
7.15.2	Compuestos JM-1, JM-2, AH-4, AH-5, AH-6, AH-7.....	95
7.15.3	JM-1	96
7.15.4	JM-2.....	99
7.15.5	AH-4	101
7.15.6	AH-5, AH-6, AH-7	103
7.16	Propiedades fisicoquímicas de 7-metoxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 7-preniloxicumarina	106

7.17	Evaluación del efecto traqueorrelajante de los compuestos obtenidos de <i>Tagetes lucida</i> a la dosis efectiva media.	107
7.18	Determinación del efecto vasorrelajante de 7-preniloxicumarina	108
7.19	Determinación del efecto traqueorrelajante de 7-preniloxicumarina	110
7.20	Evaluación Toxicológica	112
7.21	CONCLUSIÓN	114
7.22	BIBLIOGRAFÍA:	115
7.23	ANEXOS:	126
7.23.1	Cromatogramas del precipitado	126
7.23.2	Espectros	131

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.2-2. Diferentes mecanismos por los cuales los nutrientes son absorbidos a través de las células epiteliales del intestino.....	21
Figura 2.2-1. Órganos que componen el aparato digestivo: tracto gastrointestinal (GI) y los órganos digestivos accesorios.....	21
Figura 2.3-1. Estructura tridimensional de la molécula glucosa	22
Figura 2.3-2. Estructura de la membrana celular	23
Figura 2.3-3. Estructura de los transportadores de la familia SGLT.....	24
Figura 2.3-4. Localización de los transportadores de la familia SGLT y el GLUT-2.....	25
Figura 2.3-5. Estructura de los transportadores de la familia GLUT	26
Figura 2.3-6. Dendograma entre las secuencias de todos los miembros de la familia de los GLUTs	27
Figura 2.4-1. Participación del ATP en el acoplamiento de reacciones catabólicas y anabólicas... ..	28
Figura 2.4-2. Se muestran las 4 reacciones involucradas en la oxidación de la glucosa.....	29
Figura 2.5.1-1. Clasificación de la diabetes de acuerdo a Asociación Americana de Diabetes.	31
Figura 2.5.6-1. Se muestra el número de personas con diabetes (20-79 años) en el mundo.....	33
Figura 2.5.6-2. Se muestra el número de muertes debido a diabetes en adultos	34
Figura 2.5.6-3. Se muestra el gasto total en salud relacionado con la diabetes	34
Figura 2.5.6-4. Se muestra el gasto total en salud (miles de millones USD) por diabetes.....	35
Figura 2.5.9-1. Síntesis de Insulina.....	38
Figura 2.5.9-2. Secreción de la insulina de las células β pancreáticas	39
Figura 2.5.9-3. Estructura del receptor de Insulina.	40
Figura 2.5.9-4. Regulación del transporte de glucosa por la insulina.....	41
Figura 2.5.10-1. Composición del tejido adiposo de personas delgadas y obesas.....	43
Figura 2.7.3-1. Mecanismo de sensibilización al alérgeno de las vías respiratorias.	52
Figura 2.8-1. Cumarina	53
Figura 2.8-2. Clasificación de las cumarinas naturales	54
Figura 2.8.1-1. Vía fenilpropanoide que conduce a las cumarinas.....	56
Figura.2.9-2. <i>Planta Tagetes lucida</i>	59
Figura.7.2-1. Proceso de obtención del extracto etanólico de <i>Tagetes lucida</i>	62
Figura.7.3-1. Proceso general de obtención y elucidación de los compuestos.....	63
Figura.7.6-1. Representación de acoplamiento molecular.	66

Figura 7.2.3-1. Ilustración del sistema	67
Figura 7.7.7-1. Esquema representativo de la evaluación del efecto vasorrelajante en anillos de aorta aislada de rata.	68
Figura 7.8.5-1. Sistema de determinación del efecto traqueorrelajante A: Cámara de incubación en condiciones fisiológicas, B: Transductor de fuerza Grass modelo FT 03.	70
Figura 7.8.6-1. Evaluación del efecto traqueorrelajante del extracto etanólico y precipitado de <i>Tagetes lucida</i> . Esquema representativo de la evaluación del efecto traqueorrelajante en anillos de tráquea aislada de rata.	71
Figura 7.10.2-1. EEtOHTI en sistemas de elución con hexano-acetato a diferentes proporciones.	72
Figura 7.10.2-2. CCF del precipitado limpio (P), primeras lavadas (2) y aguas madres (AM) vs. extracto (EEtOHTI).....	73
Figura 7.10.2-3. CCF (hexano-acetato, 65:35) del precipitado (P) vs. 6-7, dimetoxicumarina (6-7) y umbeliferona (Umb), observadas en U.V. a longitud de onda corta.....	74
Gráfica 7.11.1-1. Ensayo de tolerancia a glucosa en ratas normoglucémicas de EEtOHTI (100 mg/kg), vehículo (agua), glibenclamida (5 mg/kg) y precipitado (50mg/kg), administrados por vía oral.....	75
Gráfica 7.11.2-1. Ensayo de tolerancia a sacarosa en ratas normoglucémicas de EEtOHTI (100 mg/kg), vehículo (agua), acarbosa (3 mg/kg) y precipitado (50 mg/kg), administrados por vía oral	77
Gráfica 7.11.3-1. Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos con 6,7,8-trimetoxicumarina (50 mg/kg), vehículo (agua), glibenclamida (5 mg/kg) y 7-preniloxicumarina (50mg/kg), administrados por vía oral.....	78
Gráfica 7.11.3-2. Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos con 6,7-dimetoxicumarina (50 mg/kg), vehículo (agua), glibenclamida (5 mg/kg) y 7-metoxicumarina (50mg/kg), administrados por vía oral.....	79
Figura 7.11.4-1. Diagrama de interacción proteína-ligando bidimensional de 7-preniloxicumarina (mayor energía de afinidad) con FFAR1	82
Figura 7.12-2. Efecto vasodilatador dependiente de la concentración del precipitado en tejido con endotelio (e+) y sin endotelio (e-).	84
Figura 7.12-1. Efecto vasodilatador dependiente de la concentración de EEtOHTI en tejido con endotelio (e+) y sin endotelio (e-).	84
Figura 7.13-1. Efecto traqueorrelajante dependiente de la concentración del EEtOHTI y precipitado vs. Teofilina en anillos de tráquea aislados de rata.	87
Figura 7.14-1. Fraccionamiento cromatográfico del EEtOHTI.....	88
Figura 7.14-3. Compuestos obtenidos de las fracciones colectadas.	89
Figura 7.14-2. Identificación de similitud por cromatografía en capa fina de los diferentes compuestos obtenidos	89
Figura 7.14-4. Compuestos obtenidos en las fracciones 94-139.	90

Figura 7.14-5. Compuesto JM-2.....	90
Figura 7.14-6. CCF (hexano-acetato, 65:35) de JM-1 1 (1), JM-2 (2) y JM-3 (3) vs. 6-7, dimetoxicumarina (6-7) y umbeliferona (Umb).....	91
Figura 7.14-7. Prueba de cloruro férrico en CCF (hexano-acetato, 65:35) de JM-1 (1), JM-2 (2) y JM-3 (3) vs. 6,7-dimetoxicumarina (6,7) y umbeliferona (Umb).	92
Figura 7.15.1-1. Cromatograma del precipitado.....	93
Figura 7.15.2-1. Protones de las posiciones 3 y 4 del α –pirona.....	96
Figura 7.15.3-1. Estructura de 6,7,8-trimetoxicumarina.	96
Figura 7.15.3-3. Estructura molecular del compuesto 6,7,8-trimetoxicumarina obtenida por difracción de rayos X	98
Figura 7.15.4-1. Estructura de 6,7-dimetoxicumarina.	99
Figura 7.15.5-1. Estructura de 7-preniloxicumarina.	101
Figura 7.15.6-1. Estructura de 7-metoxicumarina.	103
Figura 7.15.6-2. Sistema spin de 3 protones de 7-metoxicumarina.	104
Figura 7.15.6-3. Cristalografía de rayos X de metoxicumarina.	105
Figura 7.15.6-4. Estructura obtenida por difracción de rayos X de 7-metoxicumarina.	105
Figura 7.17-1. Porcentaje de relajación a la CE ₅₀ de los compuestos sobre anillos aislados de tráquea.....	107
Figura 7.18-1. Efecto vasorrelajante dependiente de la concentración de 7-preniloxicumarina en anillos de aorta aislada de rata, con (e+) y sin endotelio (e-).....	109
Figura 7.19-1. Efecto traqueorrelajante dependiente de la concentración de 7-preniloxicumarina vs. Teofilina en anillos de tráquea aislados de rata.	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.5.11-1. Fármacos utilizados para el tratamiento de la diabetes tipo 2	45
Tabla 2.6.3-1. Cifras de presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) aceptadas en el JNC y en las Guías ACC/AHA	48
Tabla 2.9-1. Datos taxonómicos <i>Tagetes lucida</i>	58
Tabla 7.11.4-1. Resultados del acoplamiento inverso de los compuestos sobre 8 diferentes	80
Tabla 7.12-1. Concentraciones medias del efecto vasodilatador y porcentaje de relajación de EEtOHTI y precipitado en tejido con endotelio (e+) y en tejido sin endotelio (e-)	83
Tabla 7.13-1. Concentraciones medias y eficacia máxima del efecto traqueorrelajante del EEOHTI y precipitado.....	87
Tabla 7.15.1-1. Cromatograma del precipitado.....	94
Tabla 7.15.2-1. Desplazamientos de ^1H y ^{13}C (400 MHz) que se mantienen en los 6 compuestos. 95	
Tabla 7.15.3-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto 6,7,8-trimetoxicumarina.	97
Tabla 7.15.3-2. Datos cristalográficos del 6,7,8-trimetoxicumarina.....	98
Tabla 7.15.4-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C de 6,7-dimetoxicumarina.....	100
Tabla 7.15.6-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C de 7-metoxicumarina.....	104
Tabla 7.16-1. Propiedades fisicoquímicas de 7-metoxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 7-preniloxicumarina. Fuente: (ChemAxon, 2020; Molinspiration Cheminformatics, 2023).....	106
Tabla 7.18-1. Concentraciones medias del efecto vasodilatador y porcentaje de relajación de 7-preniloxicumarina en tejido con endotelio (e+) y en tejido sin endotelio (e-).....	108
Tabla 7.19-1. Concentraciones medias y eficacia máxima del efecto traqueorrelajante de 7-preniloxicumarina.....	110
Tabla 7.20-1. Categorías de peligro de toxicidad aguda por ingestión y elementos que deben figurar en la etiqueta (modificado de SGA, 2011).	112
Tabla. 7.20-2. Resultados del ensayo toxicológico agudo del EEtOHTI a cada dosis.	113

ABREVIATURAS Y SIGLAS

$\delta^1\text{H}$ Desplazamiento químico de protón

$\delta^{13}\text{C}$ Desplazamiento químico de carbono

Ca^{2+} Iones calcio

CaCl_2 Cloruro de calcio

CCF Cromatografía de capa fina

CE_{50} Concentración efectiva media

C4H Ácido cinámico 4-hidroxilasa

CO_2 Dióxido de carbono

DEPT Mejora sin distorsión por transferencia de polarización

EDTA Ácido etilendiaminotetraacético

EEtOHTI Extracto etanólico de *Tagetes lucida*

FFAR1 Receptor 1 de ácidos grasos libres

GLP-1 Péptido similar al glucagón

GLUT Transportadores de glucosa

IRS Sustrato de receptor de Insulina

J Constante de acoplamiento

KCL Cloruro de potasio

KH_2PO_4 Fosfato monopotásico

MgSO_4 Sulfato de magnesio

NaCl Cloruro de Sodio

NaHCO_3 Bicarbonato de Sodio

NOS Óxido nítrico sintasa

PIP₂ Fosfatidilinositol 3,4-bisfosfato

PIP₃ Fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato

PIK3 fosfatidil-inositol 3 cinasa

PTP proteína tirosina fosfatasa

RMN Resonancia magnética nuclear

SGLT Transportadores de sodio-glucosa

TG Triglicéridos

Tyr Tirosina

Uv Ultravioleta

VS Versus que significa hacía, oposición

RESUMEN

La diabetes, el asma y la hipertensión arterial son padecimientos que se consideran importantes, ya que ocupan los primeros lugares de morbilidad, así como la principal causa de atención en la consulta externa en servicios de salud a nivel mundial, en donde no solo afectan a los adultos mayores, en los últimos años se ha observado un incremento en la prevalencia e incidencia en niños, adolescentes y jóvenes. Motivos por los cuáles la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antidiabética, antiasmática y antihipertensiva sigue siendo una necesidad sustancial en la actualidad.

El presente trabajo se enfoca en el descubrimiento de moléculas con actividad biológica, obtenidas a partir de *Tagetes lucida*, conocida como “pericón”, “yautli”, con el fin de buscar una posible actividad farmacológica para el tratamiento de estas enfermedades.

Se obtuvieron 4 compuestos a partir del extracto etanólico de *Tagetes lucida*, los compuestos fueron caracterizados mediante RMN de ^1H y ^{13}C y difracción de rayos X, los cuales fueron 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina, 7-metoxicumarina y 7-preniloxicumarina. Se evaluó el efecto antihiperlglicémico agudo del extracto etanólico (EEtOHTI) y los compuestos, en curvas de tolerancia a la glucosa y a la sacarosa, demostrando que el extracto etanólico y los compuestos poseen efecto antihiperlglicémico. Además, se evaluó los efectos traqueorrelajante y vasorrelajante, construyendo curvas concentración-respuesta con anillos de tráquea y aorta aislados de rata, precontraídos con carbacol y noradrenalina, respectivamente. El EEtOHTI ($\text{CE}_{50} = 71.40\mu\text{g/ml}$) y 6,7-dimetoxicumarina, 7-metoxicumarina y 7-preniloxicumarina ($\text{CE}_{50} = 35.7\mu\text{g/ml}$), mostraron un efecto traqueorrelajante del 100%, y el compuesto 6,7,8-trimetoxicumarina, mostró relajación del 70%. Con respecto al efecto vasorrelajante el EEtOHTI ($\text{CE}_{50} = 16.38\mu\text{g/ml}$) mostró 100% de relajación, en anillos con endotelio y en los anillos sin endotelio también hubo eficacia del 100%, con CE_{50} de $31.59\mu\text{g/ml}$, indicando que el efecto vasorrelajante del EEtOHTI es independiente del endotelio, sin embargo, cuando hay endotelio es 2 veces más potente.

Por otro lado, al no tener antecedentes sobre el efecto traqueorrelajante ni vasorrelajante del compuesto 7-preniloxicumarina, se decidió construir curvas concentración-respuesta, en donde mostró ser un vasodilatador con eficacia del 97% ($\text{CE}_{50} = 232.97\mu\text{g/ml}$), en anillos con endotelio y sin endotelio la eficacia fue 92.1% ($\text{CE}_{50} = 253.49\mu\text{g/ml}$). Con

respecto al efecto traqueorrelajante, su eficacia fue 100 % ($CE_{50} = 94.07 \mu\text{g/ml}$), mayor que el de la Teofilina (control utilizado).

Se generaron así posibles potenciales fármacos para tratar estas enfermedades y sus comorbilidades.

ABSTRACT

Diabetes, asthma and arterial hypertension are considered important conditions, since they occupy the first places in morbidity, as well as the main cause of outpatient care in health services worldwide, where they not only affect older adults, but in recent years an increase in prevalence and incidence has been observed in children, adolescents and young people. For these reasons, the search for new drugs with antidiabetic, antiasthmatic and antihypertensive activity continues to be a substantial need at present.

The present work focuses on the discovery of molecules with biological activity, obtained from *Tagetes lucida*, known as "pericon", "yautli", in order to search for a possible interesting pharmacological activity in the treatment of these diseases. Four compounds were obtained from the ethanolic extract of *Tagetes lucida*, the compounds were characterized by ¹H and ¹³C NMR and X-ray diffraction, which were 6,7-dimethoxycoumarin, 6,7,8-trimethoxycoumarin, 7-methoxycoumarin and 7-prenyloxycoumarin. The acute antihyperglycemic effect of the ethanolic extract (EEtOHTI) and the compounds was evaluated in glucose and sucrose tolerance curves, demonstrating that the ethanolic extract and the compounds have an antihyperglycemic effect. Furthermore, the tracheorelaxant and vasorelaxant effects were evaluated by constructing concentration-response curves with isolated rat tracheal and aortic rings, precontracted with carbachol and noradrenaline, respectively. EEtOHTI (EC₅₀ = 71.40 μg/ml) and 6,7-dimethoxycoumarin, 7-methoxycoumarin and 7-prenyloxycoumarin (EC₅₀ = 35.7 μg/ml), showed a 100% tracheorelaxant effect, and the compound 6,7,8-trimethoxycoumarin, showed a relaxation percentage of 70%. With respect to the vasorelaxant effect, EEtOHTI (CE₅₀ = 16.38 μg/ml) showed an effect of 100%, in rings with the presence of endothelium and in rings in the absence of endothelium it also presented an efficacy of 100% with a CE₅₀ of 31.59 μg/ml, indicating that the vasorelaxant effect of EEtOHTI is independent of endothelium, however, in endothelium-free it was 2 times more potent.

On the other hand, as there was no background on the tracheorelaxant or vasorelaxant effects of the compound 7-prenyloxycoumarin, it was also decided to construct concentration-response curves, where it showed to be a vasodilator with an efficacy of 97% (EC₅₀= 232.97 μg/ml), in rings with endothelium and in endothelium-free it shown an efficacy of 92.1%

(EC₅₀= 253.49µg/ml). With respect to the tracheorelaxant effect it showed an efficacy of 100% (CE₅₀= 94.07µg/ml), higher than that of Theophylline (control used).

Thus generating potential drugs for the treatment of these diseases and their comorbidities.

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica no trasmisible (ECNT), que no depende de la edad, sexo o condición social, y se puede presentar durante la infancia, la adolescencia, en las personas adultas o incluso durante el embarazo. Esta es una afección crónica que inicia cuando no se produce suficiente insulina, o bien esta no se utiliza de modo eficaz, dando como resultado hiperglucemia **(OMS, 2022)**. De acuerdo a la OMS la diabetes es 1 de las 10 principales causas de defunción en el mundo **(OMS, 2022)**.

La hipertensión arterial (HTA), es una afección con alta prevalencia en la población general, en la cual la presión en los vasos sanguíneos es continuamente alta. Cuanto más alta es la tensión arterial, más esfuerzo tiene que hacer el corazón para bombear la sangre. Si no se controla, la HTA puede provocar infarto de miocardio, hipertrofia ventricular y, finalmente, insuficiencia cardíaca. En los vasos sanguíneos, la presión alta puede provocar dilataciones (aneurismas) y zonas de debilidad en la pared vascular, lo que aumenta las probabilidades de obstrucción y rotura. De acuerdo a los registros, esta enfermedad representa 1 de cada 8 consultas en atención primaria, con mayor factor de riesgo atribuible a la mortalidad en todo el mundo, es responsable de más de la mitad de todos los casos de accidente cardiovascular y enfermedad coronaria o cardiopatía coronaria **(Bhagani et al., 2018)**.

El asma es una enfermedad respiratoria muy común, compleja y heterogénea que se define por sus características clínicas, fisiológicas y patológicas, como un desorden inflamatorio crónico de las vías aéreas, en el que participan diversas células y elementos celulares; está asociada con el incremento en la respuesta de las vías aéreas a una variedad de estímulos y conduce a episodios recurrentes de síntomas respiratorios, como sibilancias, disnea, opresión torácica y tos. De acuerdo con investigaciones del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), el asma afecta principalmente a niños y ancianos. El INER reportó que el asma fue la principal causa de atención en la consulta externa y ocupó el primer lugar entre las 10 principales causas de atención en la unidad de urgencias respiratorias **(Becerra, 2009; Global Initiative for Asthma 2017)**.

Lo anterior evidencia la urgente necesidad de nuevas terapias que ayuden a controlar o prevenir estas enfermedades, además de estrategias que fomenten estilos de vida que ayuden a reducirlas o prevenirlas.

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades Crónicas

El término enfermedades crónicas abarca las siguientes: cardiopatías y accidentes cerebrovasculares (enfermedades cardiovasculares), cáncer, trastornos respiratorios crónicos, diabetes, trastornos de la visión y la audición, que se cobran 35 millones de vidas al año y, en conjunto, son la principal causa de mortalidad en todo el mundo. Este tipo de enfermedades crónicas llevan a la gente a la pobreza, además, de disminuir el desarrollo económico en muchos países **(OMS, 2022)**.

2.2 Procesos químicos y mecánicos en la digestión de los alimentos

Los alimentos son imprescindibles para la vida ya que son la única fuente de energía, dado a que contienen gran variedad de nutrimentos que ayudan a las funciones normales para el correcto funcionamiento del organismo. Sin embargo, la mayoría de los alimentos que se ingieren están constituidos por moléculas de gran tamaño, por lo que no pueden ser usadas de manera eficaz, siendo necesaria la reducción de su tamaño a través de procesos mecánicos y químicos que den lugar a moléculas pequeñas que puedan ser internalizadas a las células para su utilización, este proceso es conocido como «digestión» **(Tortora & Derrickson, 2011)**.

La digestión mecánica y química de los alimentos ocurre en el aparato digestivo, por los órganos del tracto gastrointestinal (TGI) y los órganos digestivos accesorios (figura 2.2-1), dentro de estos dos grupos se ven implicadas varias enzimas que ayudan a la digestión completa de los carbohidratos, lípidos y proteínas en moléculas sencillas **(Tortora & Derrickson, 2011)**.

Una vez dado este proceso, las moléculas de menor tamaño son absorbidas como monosacáridos (carbohidratos), ácidos grasos, glicerol y monoglicérido (triglicéridos) y aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos (proteínas), a través de las células absortivas del intestino delgado, mediante difusión simple o transporte activo (figura 2.2-2) **(Tortora & Derrickson, 2011)**.

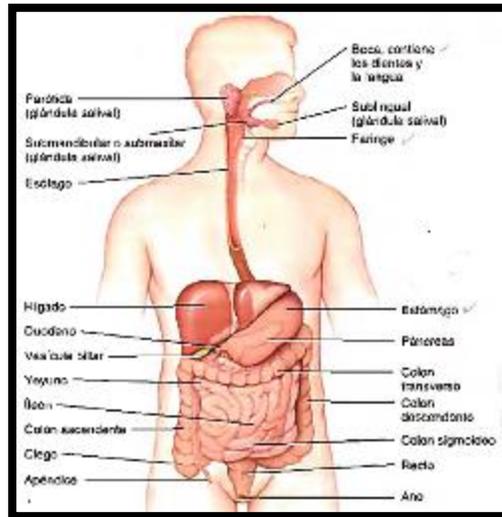


Figura 2.2-1. Órganos que componen el aparato digestivo: tracto gastrointestinal (GI) y los órganos digestivos accesorios. Fuente: **Tortora & Derrickson, 2011.**

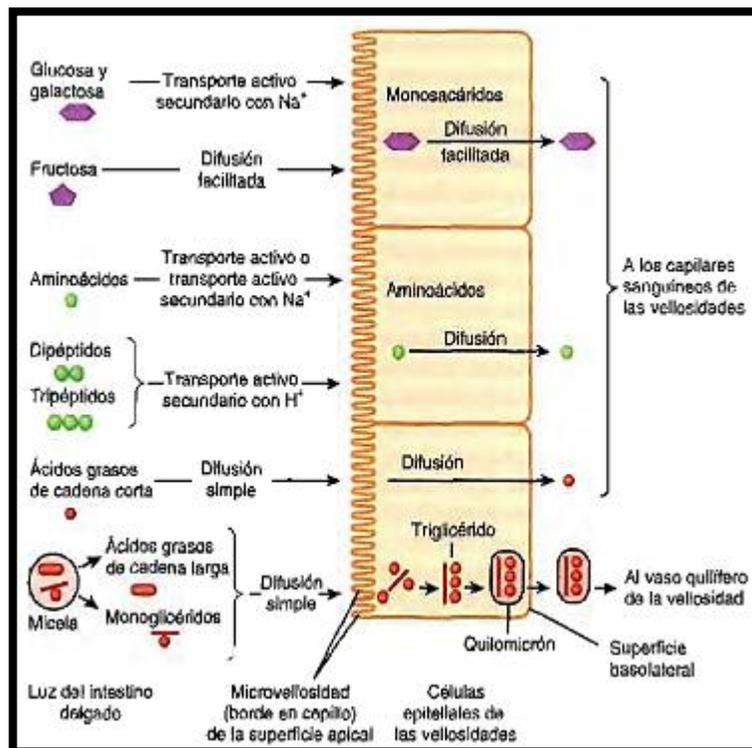


Figura 2.2-2. Diferentes mecanismos por los cuales los nutrientes son absorbidos a través de las células epiteliales del intestino. Fuente: **Tortora & Derrickson, 2011.**

2.3 Captación de la glucosa

Una vez que los disacáridos y polisacáridos son ingeridos, se tienen que digerir o hidrolizar a monosacárido por acción del complejo enzimático α -glucosidasas. Este complejo consta de 4 enzimas: lactasas, sacarasas, maltasas y α -dextrinasas, dando como resultado los monosacáridos, glucosa, galactosa y fructosa.

La glucosa es una aldohexosa con múltiples grupos hidroxilo que le confieren polaridad a la molécula, por lo que no puede difundir por la membrana celular, siendo necesarios transportadores específicos para que la glucosa sea internalizada en la célula (figura 2.3-2).

Así, el transporte de glucosa lo ejecutan dos grupos de proteínas transportadoras los SGLT (sodium-glucose transporters) y los transportadores GLUT (glucose transporters) (Díaz & Burgos, 2002).

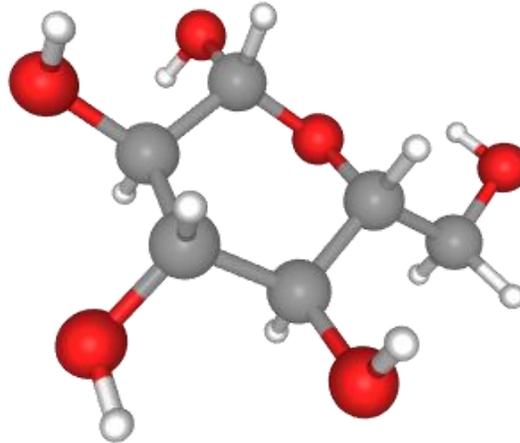


Figura 2.3-1. Estructura tridimensional de la molécula glucosa. Los círculos rojos representan los oxígenos, los grises el carbono y los blancos los hidrógenos. Fuente: (PubChem, 2020).

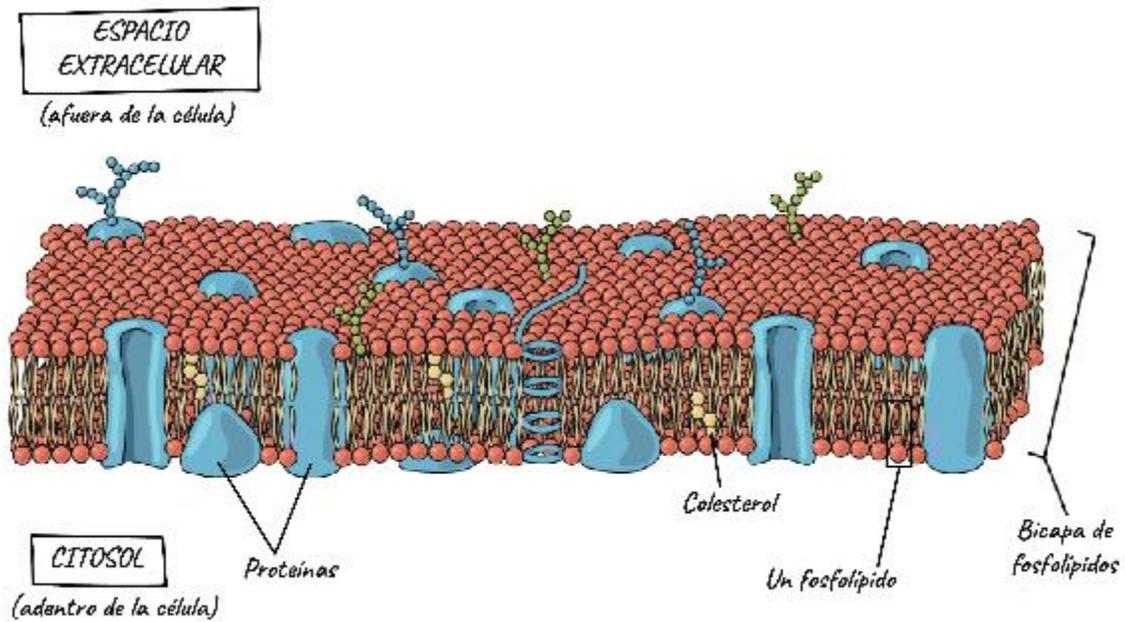


Figura 2.3-2. Estructura de la membrana celular. Fuente: **(Membrana plasmática y citoplasma, 2019).**

La familia de transportadores SGLT son proteínas de gran tamaño, con estructura similar que consta de 14 dominios transmembranales con un dominio de unión extracelular con especificidad para diferentes monosacáridos (figura 2.3-3) **(Tahrani, Barnett & Bailey, 2013)**. Estos transportadores aprovechan la internalización del sodio a favor del gradiente electroquímico, existente entre el medio intracelular y extracelular generado por la bomba de Na^+/K^+ , para que se transporte la glucosa (en algunos casos galactosa) en contra de un gradiente químico **(Díaz & Burgos, 2002)**.

Se conocen tres isoformas de SGLT, el tipo 1 (SGLT-1), el tipo 2 (SGLT-2) y el tipo 3 (SGLT 3), solo los tipos 1 y 2 son funcionales en el cuerpo humano; en cambio, el tipo 3 solo se ha encontrado en cerdos. Los SGLT 1 y 2 se diferencian en varios aspectos como la ubicación tisular, la afinidad sobre la glucosa y el sodio, y pueden transportar la glucosa o galactosa **(Díaz & Burgos, 2002)**.

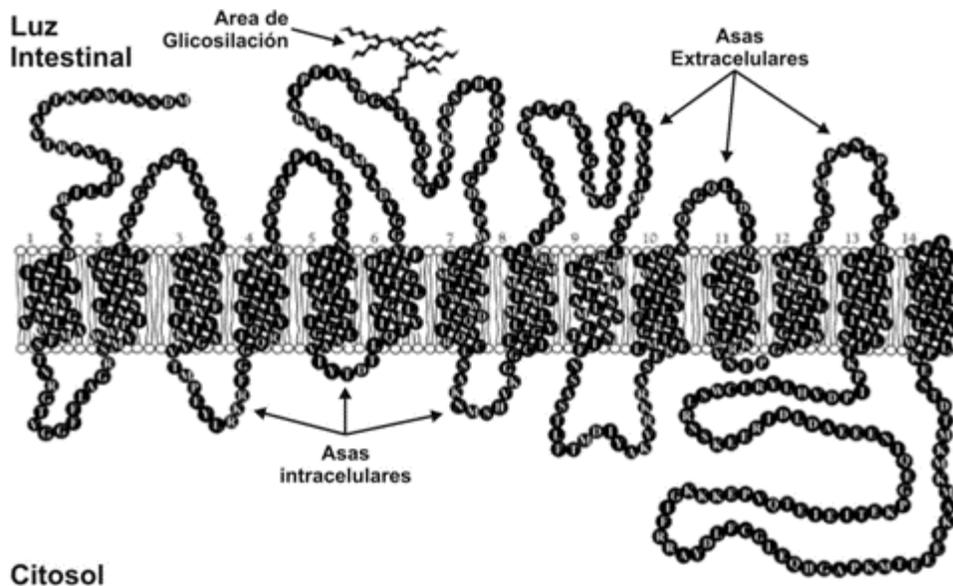


Figura 2.3-3. Estructura de los transportadores de la familia SGLT.
Fuente: **(Bermúdez et al., 2007).**

Los SGLT-1 tienen mayor afinidad por los monosacáridos, transportan dos moléculas de sodio por molécula de glucosa o galactosa, se ubican en la membrana apical de los enterocitos del intestino delgado para la absorción de monosacáridos. En cambio, los SGLT-2 solo transportan 1 molécula de glucosa por cada ion sodio y se localizan en la membrana apical de las células epiteliales que recubren los segmentos S1 y S2 de la nefrona; este reabsorbe el 90% de la glucosa filtrada por los riñones, debido a su alta capacidad de transportar la glucosa. Los SGLT-1 también se encuentran en el segmento S3 de la nefrona proximal, y reabsorben la glucosa filtrada que no se reabsorbió en los segmentos S1 y S2 de la nefrona (figura 2.3-4) **(Díaz & Burgos, 2002; Berbard & Katrien, 2014; Tahrani, Barnett & Bailey, 2013).**

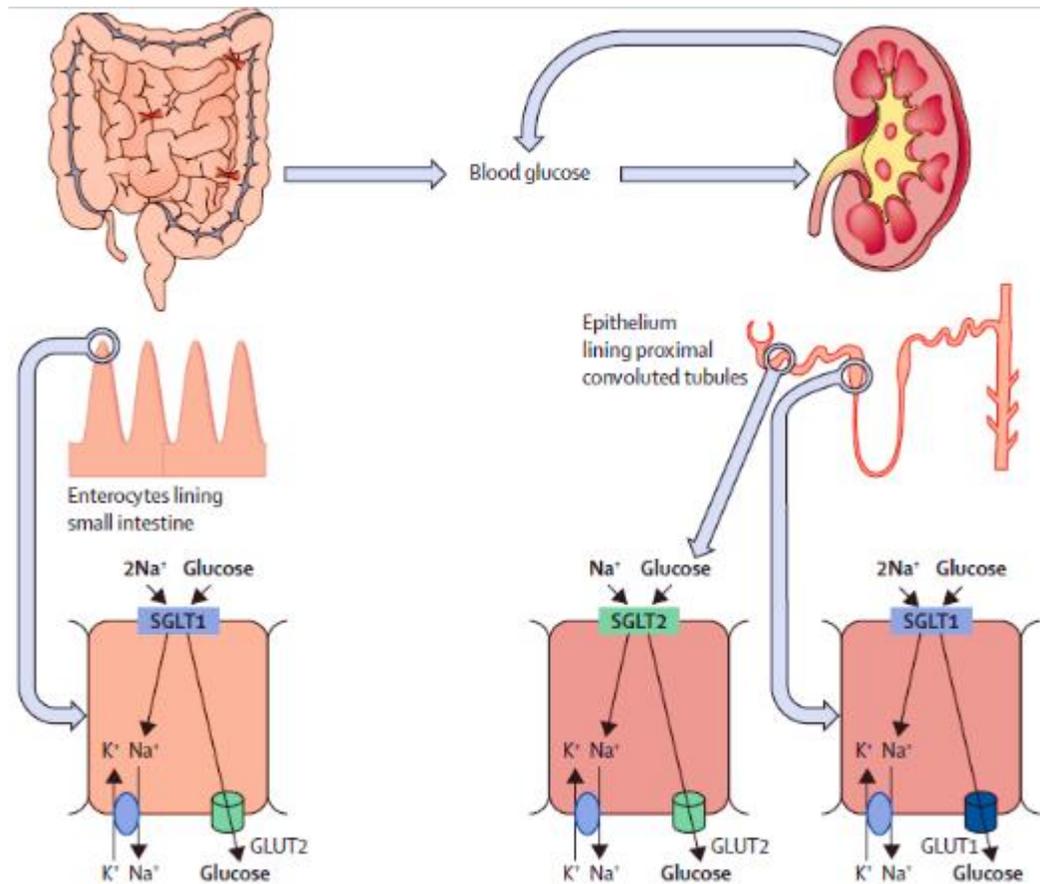


Figura 2.3-4. Localización de los transportadores de la familia SGLT y el GLUT-2. Fuente: Tahrani, Barnett & Bailey, 2013).

Los SGLT 1 y 2 solo absorben la glucosa desde el medio extracelular a través de la membrana apical hacia el medio intracelular, después la glucosa se transporta fuera de la célula por difusión facilitada a través de los GLUT, en la membrana basolateral (figura 2.3-4) (Ghezzi, Loo & Wright, 2018).

Los transportadores de glucosa, GLUT, son una familia de proteínas con doce dominios transmembranales (figura 2.3-5).

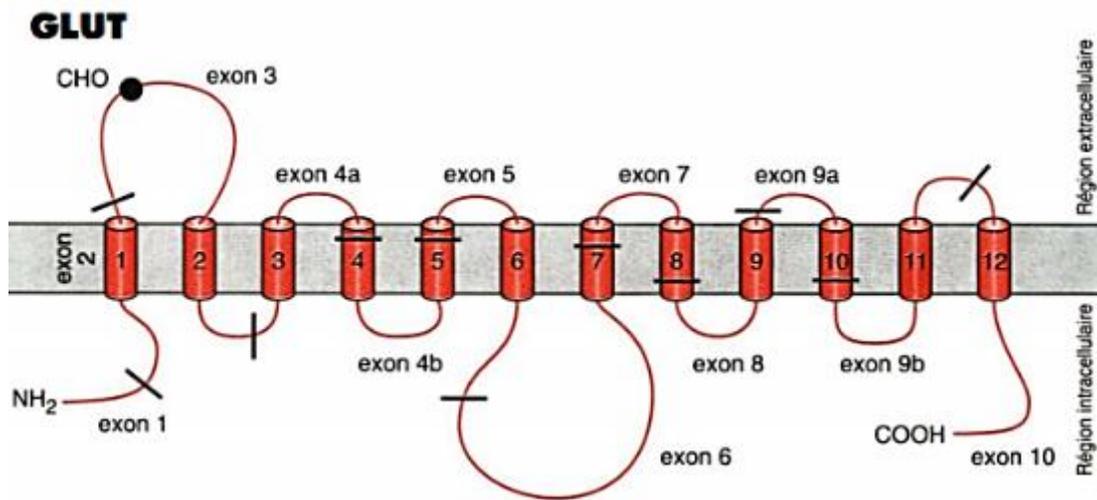


Figura 2.3-5. Estructura de los transportadores de la familia GLUT, se observan los doce dominios transmembranales. Fuente: **(Guerre-Milio, 1995)**.

Actualmente, se conocen 13 isoformas, cada una con características cinéticas propias, así como diferente ubicación, que dependen de las necesidades metabólicas (requerimiento de glucosa) de los distintos tejidos del cuerpo humano **(Bermúdez et al., 2007)**. De acuerdo a la base de homología en la secuencia primaria, estos transportadores se dividen en tres subfamilias (de clase 1, 2 y 3) como se muestra en el dendograma de la figura 2.3-6 **(Stuart Wood & Trayhurn, 2003)**.

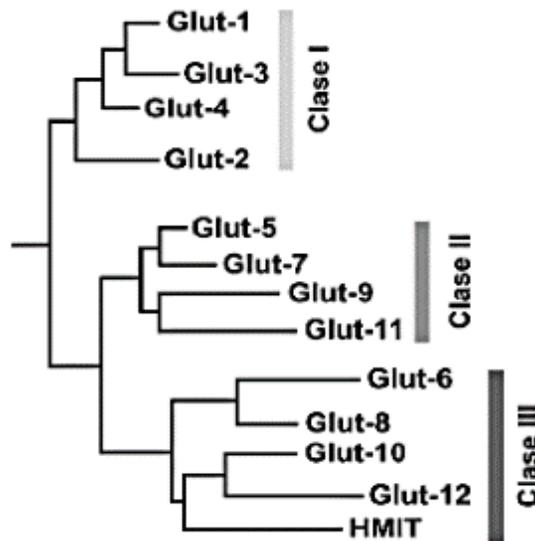


Figura 2.3-6. Dendograma entre las secuencias de todos los miembros de la familia de los GLUTs. Fuente: **(Bermúdez et al., 2007)**.

Los GLUT 1 se localizan en las células del intestino, mientras que en las células de los segmentos de la nefrona se encuentran ambos tipos, de esta forma los transportadores SGLT y GLUT funcionan en tándem para que la glucosa llegue al torrente sanguíneo. Uno de los transportadores más estudiados y más relacionados a la DT2 es el GLUT 4, tiene alta afinidad por la glucosa y se expresa en tejidos sensibles a la hormona insulina, debido a que esta estimula la translocación del GLUT 4 a la membrana plasmática desde vesículas intracelulares, incrementando de 10 a 20 veces el transporte de glucosa, esto ocurre por la activación del receptor de insulina mediante la cascada de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) y la vía de la fosfatidil-inositol 3 cinasa (PIK3), que se expresa en el músculo esquelético, el tejido adiposo y el corazón. El GLUT 4 está formado por 509 aminoácidos y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 17 **(Castrejon et al., 2007)**.

2.4 Procesos bioquímicos de conversión de energía en la célula

La energía puede ser obtenida de varios compuestos, sin embargo, la principal fuente de obtención es los carbohidratos, que además son las biomoléculas más abundantes de la tierra y son fundamentales en la dieta humana en la mayor parte del mundo (**Lehninger, Nelson & Cox, 2005**).

El monosacárido glucosa es el carbohidrato que se metaboliza para obtención de energía; es importante destacar que la fructosa se convierte en glucosa mediante una reacción reversible llevada a cabo por la fosfohexosa isomerasa en las células absortivas del intestino, los hepatocitos también contribuyen en esa conversión o también se convierte la galactosa en glucosa (**Lehninger, Nelson & Cox, 2005**).

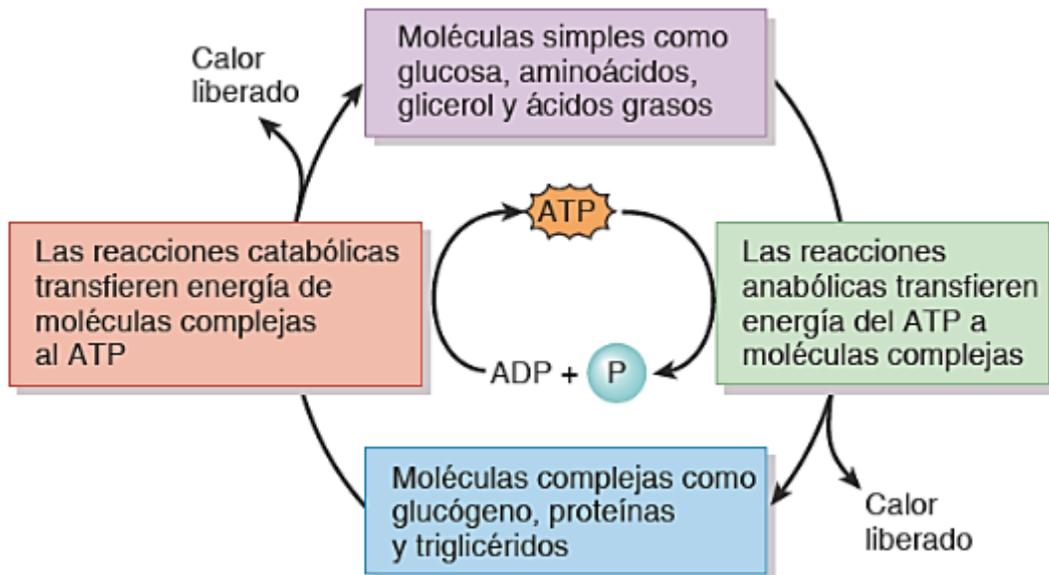


Figura 2.4-1. Participación del ATP en el acoplamiento de reacciones catabólicas y anabólicas. Fuente: **Tortora & Derrickson, 2011**.

Una vez que la glucosa es absorbida experimenta reacciones metabólicas que culminaran en la formación de adenosina trifosfato (ATP), que es la moneda energética de las células vivas (Figura 2.4-1) (Tortora & Derrickson, 2011).

Las rutas metabólicas que permiten la obtención de ATP son: glucólisis, la formación de Acetil-Coenzima A, el ciclo de Krebs (ciclo del ácido cítrico o ciclo de los ácidos tricarbónicos), y la cadena de transporte de electrones, en conjunto estas reacciones llevan a cabo la respiración celular, para generar netamente 32 moléculas de ATP (Figura 2.4-2) (Tortora & Derrickson, 2011).

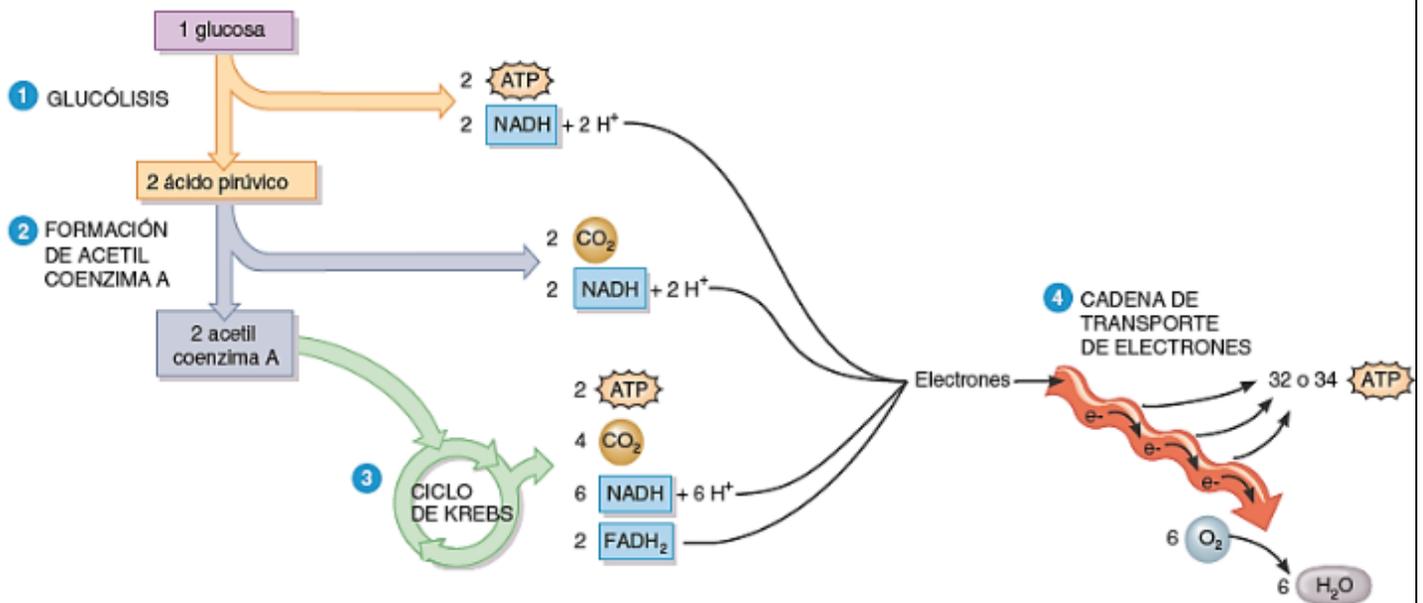


Figura 2.4-2. Se muestran las 4 reacciones involucradas en la oxidación de la glucosa.
Fuente: Tortora & Derrickson, 2011.

2.5 Definición de Diabetes

De acuerdo a la OMS la diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce, caracterizada e por la hiperglucemia (aumento de la glucosa en la sangre) **(OMS, 2022)**.

Por otro lado, la NOM-015-SSA2-2010, define a la diabetes como una enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas **(NOM-015-SSA2-2010)**.

2.5.1 Clasificación de diabetes

Se han generado muchas revisiones a lo largo del tiempo, así como ha sido tema de muchas consultas el determinar cuál es la más apropiada clasificación y diagnóstico de la diabetes, debido a que esta enfermedad es muy compleja.

De acuerdo a la Asociación Americana de Diabetes (ADA), la diabetes se clasifica en: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional (DG) y otros tipos de diabetes (Figura 2.5.1-1) **(Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 2014; IDF, 2021)**.

Por otro lado, de acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes (FID) la diabetes se clasifica en tres tipos: diabetes tipo 1 (DT1), diabetes tipo 2 (DT2) y diabetes gestacional (DG). Sin embargo, la ADA, propone cuatro tipos de diabetes: DT1, DT2, DG y otros tipos de diabetes.

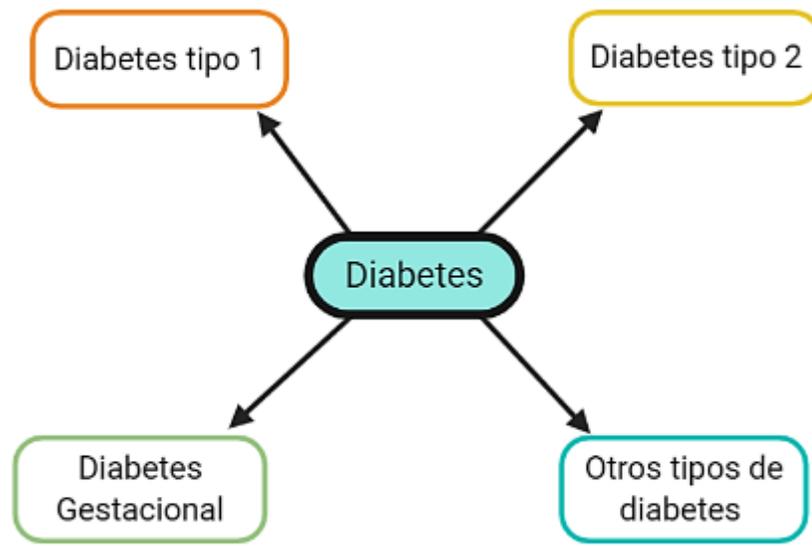


Figura 2.5.1-1. Clasificación de la diabetes de acuerdo a Asociación Americana de Diabetes.

2.5.2 Diabetes tipo 1 (DT1) (diabetes insulín dependiente)

Este tipo de diabetes puede desarrollarse a cualquier edad, pero con mayor frecuencia ocurre en adolescentes y niños. Se debe a una reacción autoinmune mediada por células del sistema inmune del organismo, que destruyen a las células β que se localizan en los islotes de Langerhans del páncreas, las encargadas de producir y liberar la hormona insulina (hormona anabólica), esto reduce la síntesis de hormona insulina, generando su deficiencia relativa o absoluta. Las causas de este proceso no han sido entendidas plenamente. Sin embargo, se conocen los factores implicados, como la combinación de susceptibilidad genética y desencadenantes medioambientales (infecciones virales, toxinas o algunos factores dietéticos) **(American Diabetes Association, 2019; OMS, 2020, IDF, 2021).**

2.5.3 Diabetes tipo 2 (DT2) (diabetes no insulín dependiente)

La diabetes tipo 2 es una de las afecciones más frecuentes en adultos, no obstante, este tipo de diabetes ha aumentado en niños, adolescentes y jóvenes obesos representando el 90 % de los casos de esta afección. Se debe a la incapacidad del cuerpo para producir y

utilizar la insulina provocando grados variables de resistencia a la insulina, lo que se refleja con hiperglucemia (**American Diabetes Association, 2019; OMS, 2020; IDF, 2021**).

2.5.4 Diabetes gestacional (DG)

Este tipo de diabetes se caracteriza por hiperglucemia que se detecta por primera vez en mujeres durante el embarazo. Debido a la producción de hormonas en la placenta además de otras causas durante el embarazo provocando una alteración en el metabolismo de los carbohidratos (**American Diabetes Association, 2019; OMS, 2022; IDF, 2021**).

2.5.5 Otros tipos de diabetes

Estos otros tipos de diabetes son menos frecuentes en la población, en comparación con la diabetes tipos 1 y 2, y son resultado de defectos en múltiples genes, factores ambientales entre otros (**American Diabetes Association, 2019; OMS, 2022; IDF, 2021**). Estos se deben a una única mutación genética, a enfermedades relacionadas al páncreas, a trastornos hormonales, así como exposición a agentes químicos, como los fármacos (**American Diabetes Association, 2019; OMS, 2022; IDF, 2021**).

2.5.6 Epidemiología de la Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica no trasmisible (ECNT), y de acuerdo a la OMS la diabetes es 1 de las 10 principales causas de defunción en el mundo.

La IDF confirma que la diabetes es una emergencia sanitaria mundial de más rápido crecimiento del siglo XXI (figura 2.5.6-1). En 2021, se estimó que 537 millones de personas tienen diabetes y se proyecta que se alcanzarán los 643 millones para 2030 y 783 millones para 2045, estas proyecciones han indicado claramente que es probable que el impacto global de la diabetes continúe aumentando considerablemente (**IDF, 2021**).

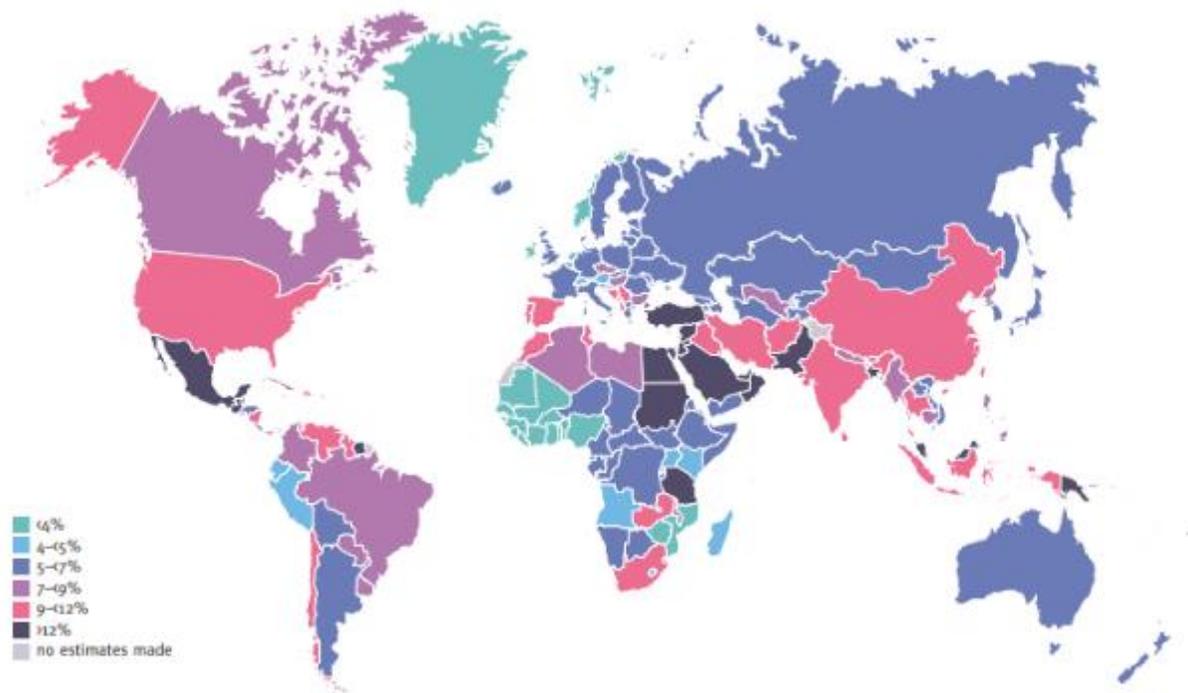


Figura 2.5.6-1. Se muestra el número de personas con diabetes (20-79 años) en el mundo.
Fuente: **IDF, 2021.**

Adicionalmente se estima que muchas personas no han sido diagnosticadas con diabetes (DT2), que actualmente supera el 50%, es decir que 1 de cada 2 adultos con diabetes no saben que tienen diabetes. Esto revela la necesidad urgente de identificar a las personas no diagnosticadas con diabetes y brindarles atención adecuada, y oportuna, a todas ellas lo antes posible (**IDF, 2021**).

Se estima que 6.7 millones de adultos de entre 20 y 79 años murieron como resultado de la diabetes y sus complicaciones en 2021 (**IDF, 2021**).

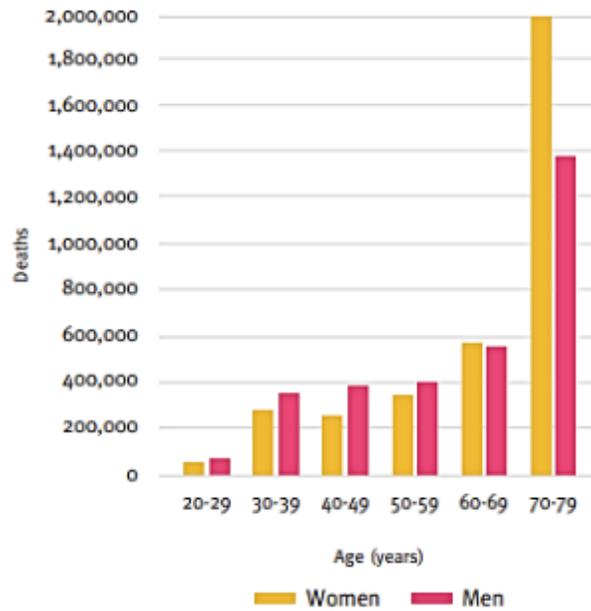


Figura 2.5.6-2. Se muestra el número de muertes debido a diabetes en adultos (20-79 años) por edad y sexo en 2021. Fuente: **IDF, 2021.**

La IDF estimó que, en 2021, el gasto total en salud relacionado con la diabetes alcanzó 966,000 millones USD. Se espera que el impacto económico de la diabetes continúe creciendo. Y esto se puede observar con las estimaciones, que proyectan que el gasto será 1.03 billones de USD para 2030 y 1.05 billones de USD para 2045 (figura 2.5.6-3) (**IDF, 2021**).

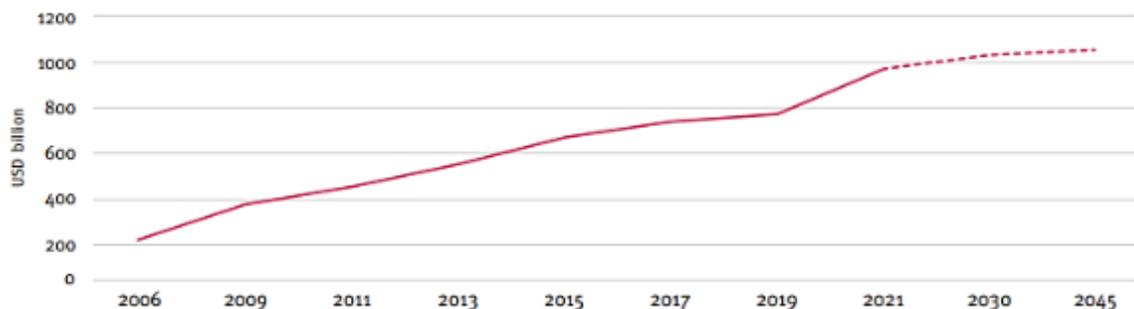


Figura 2.5.6-3. Se muestra el gasto total en salud relacionado con la diabetes para adultos (20-79 años) de 2006 a 2045. Fuente: **IDF, 2021.**

La región de América del Norte y el Caribe (NAC), donde están México, Estados Unidos de América, Canadá y 21 países del Caribe, tienen el gasto total en salud relacionado con la diabetes más alto con 400.5 mil millones USD (figura 2.5.6-4) (IDF, 2021).

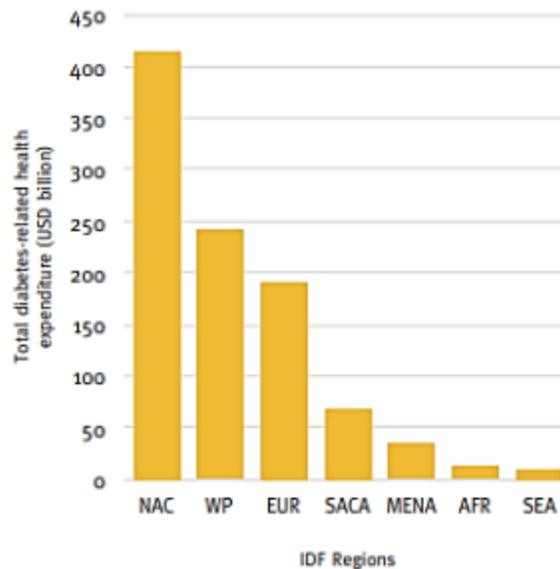


Figura 2.5.6-4. Se muestra el gasto total en salud (miles de millones USD) por diabetes en 2021 por regiones. Fuente: **IDF, 2021**.

En este contexto la diabetes tiene un lugar muy importante entre las ECNT, por lo que es un problema de salud pública, que origina una carga financiera importante para varios países, esto se atribuye al aumento de la prevalencia y del costo por persona con diabetes (IDF, 2021; Chávez Silva, 2019; American Diabetes Association, 2019); además, genera también el aumento de defunciones debido a las complicaciones que produce (American Diabetes Association, 2019; OMS, 2022; IDF, 2022).

2.5.7 Complicaciones de la diabetes

La población que tiene diabetes tiene mayor riesgo de desarrollar graves problemas de salud, potencialmente letales, que aumentan los costos de la atención sanitaria, así como la disminución de la calidad de vida del paciente. La IDF señala que la mayoría de las personas

con diabetes no son conscientes de tener complicaciones diabéticas. Sin embargo, la mayoría de las complicaciones puede detectarse en sus primeras etapas mediante programas de detección (IDF, 2022).

Las complicaciones de la diabetes se desarrollan debido a la hiperglucemia, causando lesiones vasculares generalizadas, que pueden originar ceguera, insuficiencia renal, amputaciones de extremidades inferiores y una complicación es frecuente es la enfermedad cardiovascular (ECV). Además, la diabetes también se ha asociado al aumento de los índices de cáncer, discapacidad física y cognitiva, tuberculosis y depresión (IDF, 2022).

De acuerdo a la IDF las complicaciones de la diabetes se pueden clasificar en 2 grupos:

- **Complicaciones Agudas**

Se incluyen hipoglucemia, estado hiperosmolar hiperglucémico (EEH), cetoacidosis diabética (CAD), coma diabético hiperglucémico, convulsiones o pérdida de consciencia e infecciones.

- **Complicaciones Crónicas**

Las complicaciones crónicas se dividen en: complicaciones microvasculares y macrovasculares crónicas, dentro de las microvasculares están la nefropatía, la neuropatía y la retinopatía y en las macrovasculares la enfermedad coronaria (EC) que conduce a la angina o el infarto de miocardio, la enfermedad arterial periférica (EAP) que contribuye al accidente cerebrovascular, la encefalopatía diabética y el pie diabético.

2.5.8 Criterios para el diagnóstico de la diabetes

Los criterios de diagnóstico de la diabetes de acuerdo a la ADA (ADA, 2020) son los siguientes:

1. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L). Ausencia de ingesta calórica en las 8 horas previas al examen.
2. Glucosa plasmática a las 2 h después de la prueba de tolerancia a la glucosa (con 75 g de glucosa disuelta en agua) ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L).

3. A1C $\geq 6.5\%$ (**48 mmol/mol**).
4. Paciente con síntomas clásicos de hiperglicemia o crisis hiperglucémica, con glucosa plasmática casual (cualquier hora del día) ≥ 200 mg/dL (**11.1 mmol/L**).

2.5.9 Señalización de Insulina

El conocimiento sobre la síntesis, secreción y acción farmacológica es importante para establecer acciones terapéuticas adecuadas en el manejo de la diabetes.

El péptido inicial, la preproinsulina consiste de un péptido señalizador (SP), una cadena B, péptido C y una cadena A, que se sintetiza en las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas. Se almacena en microvesículas en las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, experimenta algunas modificaciones estructurales, como formar puentes disulfuro (S-S) para dar origen a los pliegues de proinsulina, que es transportada al aparato de Golgi, donde las enzimas proteolíticas, convertasa 1 y 2 (PC1 y PC2), hidrolizan proinsulina se genera la insulina, el péptido C y dos dipéptidos. La insulina y el péptido C se almacenan en gránulos y se secretan de manera simultánea en cantidades equimolares (**Morimoto-Martínez, 2000; Brunton et al., 2019**).

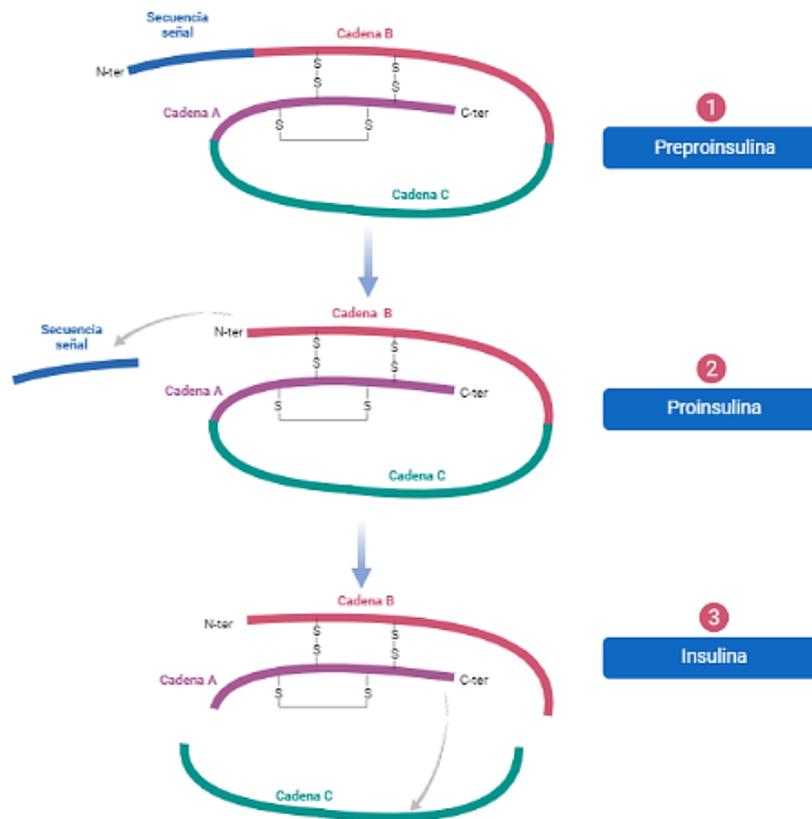


Figura 2.5.9-1. Síntesis de Insulina.

Las acciones de la insulina son anabólicas, ya que su señalización favorece la captación, uso y almacenamiento de nutrientes: glucosa, lípidos y aminoácidos. Además de estimular la glucogénesis, la lipogénesis, la síntesis de proteínas, y también inhibe el catabolismo de esas moléculas. Una acción importante de la insulina es mantener la homeostasis de la glucemia (70-110 mg/dL), favoreciendo la internalización y almacenamiento de esta en músculo y tejido adiposo (**Brunton et al., 2019**).

La ingesta de alimentos provoca hiperglucemia transitoria, favorece captación de glucosa hacia las células β a través del GLUT-2 de baja afinidad. la glucosa se fosforila por la glucoquinasa, luego la glucosa-6-fosfato producida entra al metabolismo de glucosa (glucólisis, ciclo de Krebs), para incrementar la formación de ATP. Este cambio en la proporción de ADP/ATP, provocará el bloqueo de los canales de K^+ sensibles a ATP (canales K_{ATP}), lo que despolariza la membrana celular y se abren los canales de Ca^{2+} tipo L, dependientes de voltaje. El incremento del Ca^{2+} intracelular activará todo el complejo de polimerización de microtúbulos, que provoca la liberación (exocitosis) de la insulina de las vesículas al medio extracelular. (Brunton et al., 2019).

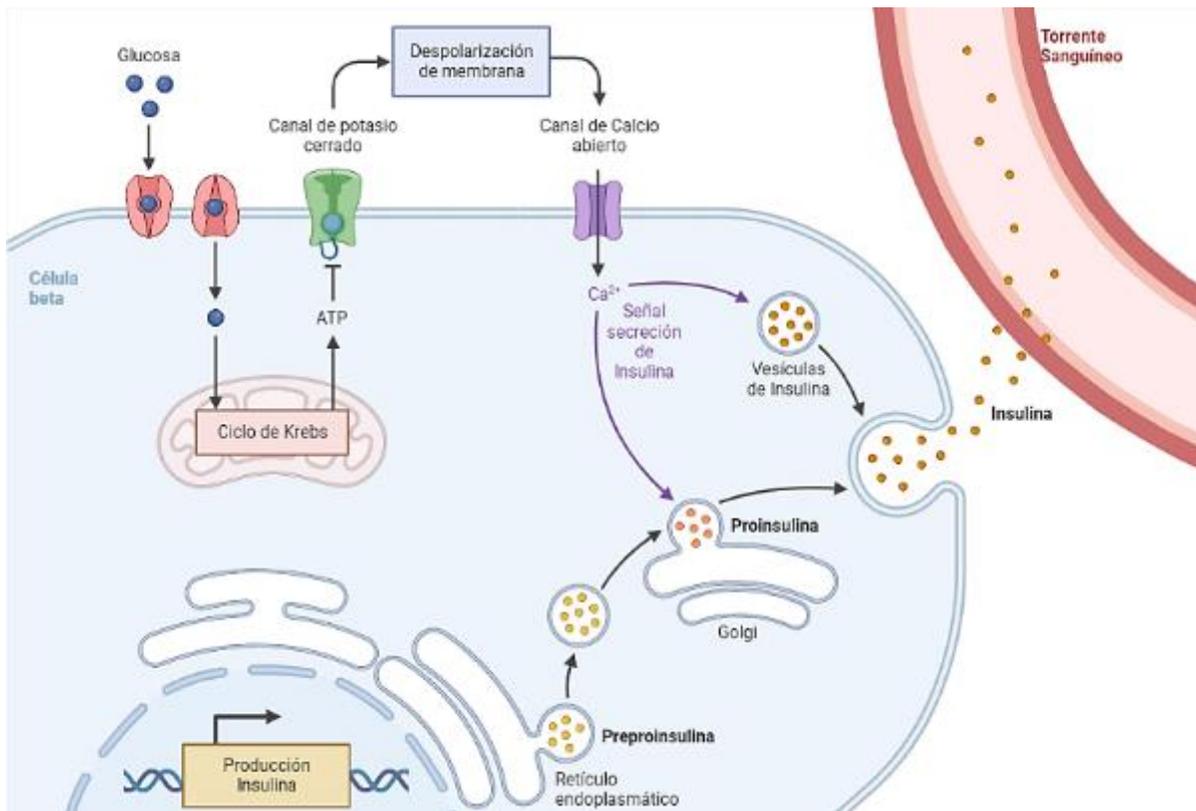


Figura 2.5.9-2. Secreción de la insulina de las células β pancreáticas.

Después de su liberación al torrente sanguíneo, la insulina viaja a todo el organismo, y en tejido adiposo, hígado y músculo esquelético, para ejercer sus efectos mitogénicos vía fosforilación de residuos de tirosina (Tyr)/desfosforilación serina/treonina (Ser/Thr) del

receptor de insulina, un heterotetrámero constituido por 2 subunidades α y 2 β (α_2, β_2). Las dos subunidades α son extracelulares y las dos subunidades β comienzan en la región extracelular, luego atraviesan la membrana plasmática (figura 2.5.9-3), con actividad intrínseca de cinasas de Tyr. La insulina inicia la señalización de las dos vías principales de transducción: la vía de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) y la vía de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) (Olivares et al., 2008; Brunton et al., 2019).

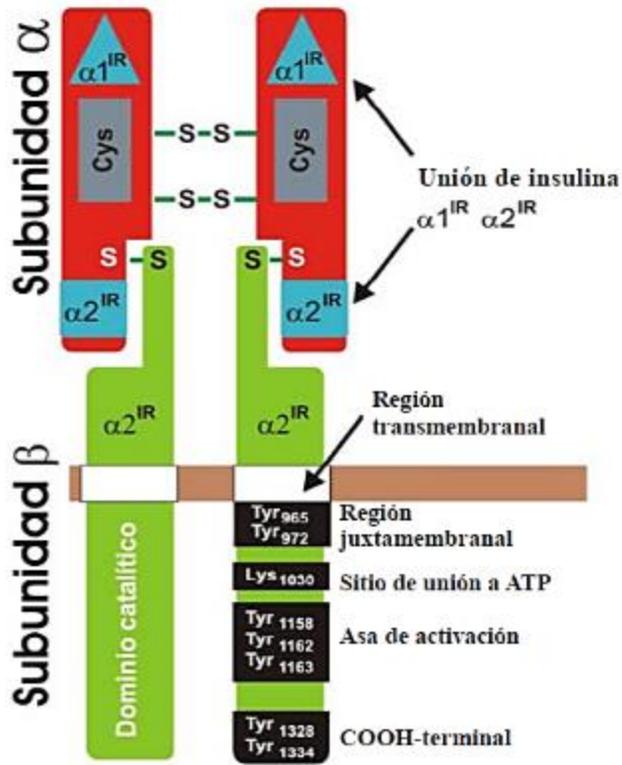


Figura 2.5.9-3. Estructura del receptor de Insulina.

La vía PI3K, regula el transporte de glucosa (Figura 2.5.9-4), inicia cuando el receptor de insulina autofosforilado interacciona con el sustrato de receptor de insulina (IRS), isoforma 1 (IRS-1) y lo fosforila, la fosfatidilinositol 3-cinasa PI3K, posee una subunidad catalítica y una reguladora que reconoce el dominio SH2, y permite la unión con el IRS-1, esta interacción provoca cambios alostéricos en la conformación de la subunidad reguladora, con lo que activa

la PI3K, genera fosfatidilinositol 3,4-bisfosfato (PIP₂) y fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato (PIP₃), esta última sirve como sitio de unión para cinasas de Ser como las PDK-1 y PDK-2 y la proteína cinasa B (PKB/Akt), la PKB/Akt provoca la translocación de los GLUT-4, localizados en vesículas intracelulares hacia la membrana plasmática y transportan glucosa a células musculares y adiposas (Olivares et al., 2008; Gutiérrez et al., 2017; Brunton et al., 2019).

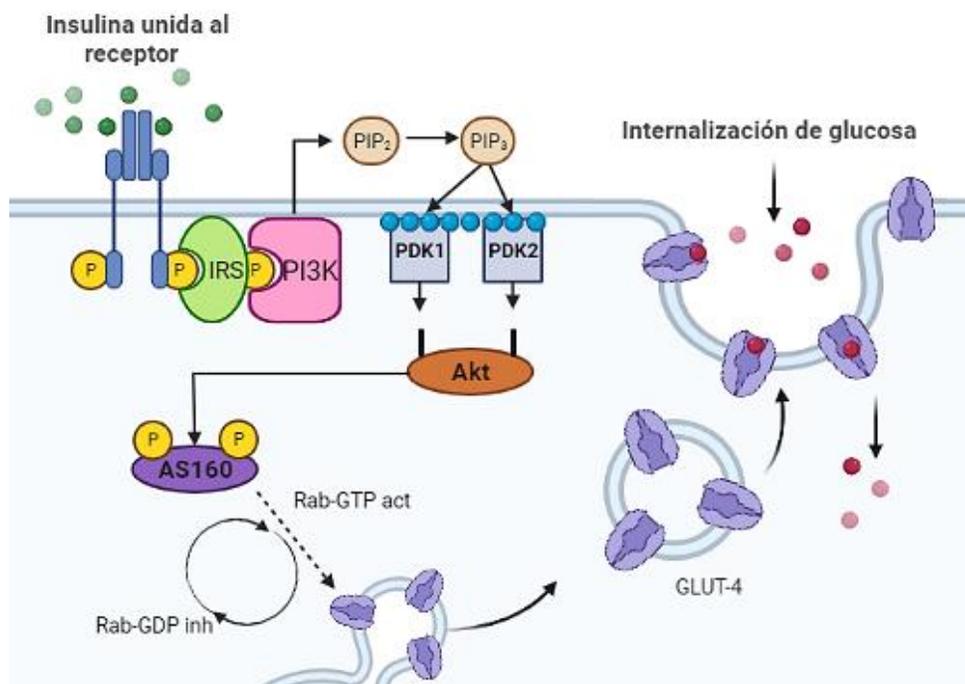


Figura 2.5.9-4. Regulación del transporte de glucosa por la insulina.

2.5.10 Resistencia a la Insulina

La resistencia a la insulina es un estado patológico característico de la obesidad, donde en los tejidos metabólicos: hepático, adiposo y muscular, es más relevante ya que expresan GLUT-4. Esta resistencia periférica provocará que las células β pancreáticas sintetizen y secreten más insulina para compensar la disminución de la sensibilidad (hiperinsulinemia

compensatoria); sin embargo, con el tiempo las células β pancreáticas se agotan a y ocurre hiperglucemia sostenida y DT2.

Entre los factores involucrados en la disfunción celular y en las complicaciones micro y macrovasculares, están la exposición prolongada a la hiperglucemia (glucotoxicidad) y a los ácidos grasos libres (lipotoxicidad) **(Fu et al., 2013)**. Por lo que la evidencia experimental y clínica, donde la obesidad es muy importante en la generación de resistencia a la insulina y disfunción metabólica, reporta la respuesta inflamatoria crónica de bajo grado, con incremento en la acumulación de lípidos en el tejido adiposo, y hace que los adipocitos incrementen su número (hiperplasia), así como su tamaño (hipertrofia) perdiendo la capacidad de almacenar más lípidos, lo cual evidentemente contribuye a que los adipocitos experimenten hipoxia (figura 2.5.10-1), el resultado de este fenómeno es estrés oxidante, con formación de especies reactivas de oxígeno (EROs); liberación de más ácidos grasos (AGL) y secreción de adipocinas proinflamatorias intracelulares **(Olivares et al., 2008; Gutiérrez et al., 2017; Brunton et al., 2019)**.

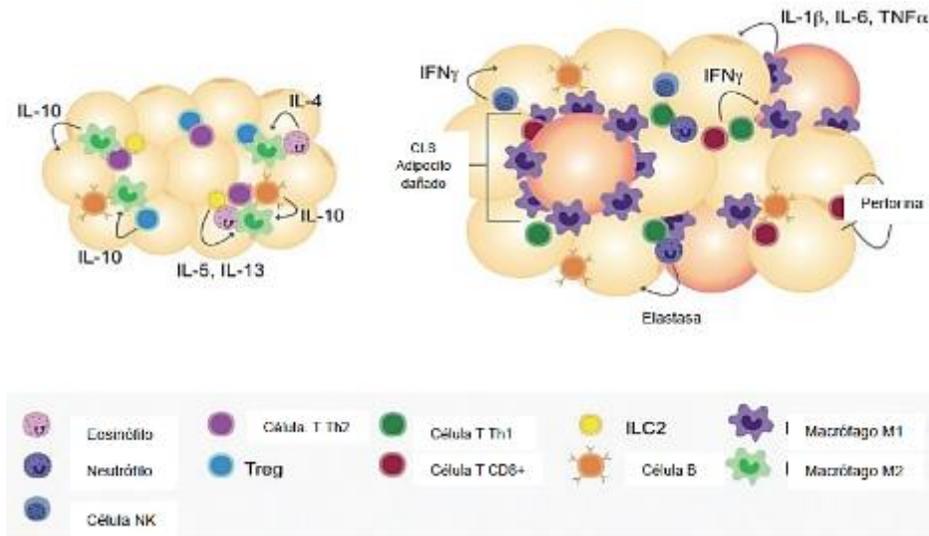


Figura 2.5.10-1. Composición del tejido adiposo de personas delgadas y obesas. Fuente: **Oliveros et al., 2008; Ghazarian et al., 2015; Gutiérrez et al., 2017; Brunton et al., 2019).**

Entre estas citocinas proinflamatorias secretadas; están resistina, interleucina 6 (IL-6), interleucina (IL-18), interleucina 1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), Ang-II,-que provocarán un cuadro inflamatorio crónico de bajo grado y, posteriormente, resistencia a la insulina. Este déficit en la señalización por insulina ocurre por múltiples mecanismos, donde hay mutaciones y/o modificaciones postraduccionales en el receptor de insulina, IRS o de moléculas efectoras río abajo en la señalización, como hiperfosforilación en cinasas de serina-treonina (Ser/Thr), la disminución en la expresión del IRS-1, del GLUT-4, disminución de la actividad de PI3K y Akt, así como también el aumento de actividad de fosfatasa de residuos de tirosina (Tyr), como la proteína-tirosina-fosfatasa 1B (PTP-1B).

Otro factor involucrado en la resistencia a la insulina, es la activación de receptores tipo toll (TLR), TLR-2 y TLR-4, ya que estos participan en activar la vía del factor nuclear kappa B (NF- κ B) (**Gutiérrez et al., 2017**).

2.5.11 Tratamiento para la diabetes tipo 2

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus (**NOM-015-SSA2-2010**), el tratamiento debe considerar el establecimiento de metas: glucemia adecuada, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos, presión arterial, índice de masa corporal, circunferencia abdominal, y la HbA1c. Para alcanzar esas metas se tienen estos abordajes:

Tratamiento no farmacológico: Consiste en un plan de alimentación, control de peso y actividad física, apoyado en un programa estructurado de educación terapéutica.

Tratamiento farmacológico: Si 3-6 meses de tratamiento no farmacológico no es suficiente para mantener los objetivos de control glucémico, se recomienda iniciar un tratamiento farmacológico (**Guía de práctica clínica sobre diabetes tipo 2, 2008**). Cuyo objetivo es mantener la glucemia controlada y lo más cerca de los valores normales.

En la tabla 2.5.11-1 se muestran los tratamientos farmacológicos utilizados para la diabetes tipo 2:

Tabla 2.5.11-1. Fármacos utilizados para el tratamiento de la diabetes tipo 2. Fuente: **FMD, 2015; Ampudia-Blasco, 2008; Mediavilla, 2014.**

Grupo	Fármaco	Efecto farmacológico
Sulfonilureas	Glibenclamida Clorpropamida	Estimula la producción y secreción de insulina por el páncreas
Meglitinidas	Repaglinida Nateglinida	Estimula la secreción de insulina por el páncreas. Necesitan de células β funcionales
Biguanidas	Metformina	Disminuye la producción hepática de glucosa, mejorando la acción de la insulina en el hígado. Favorece la captación de la glucosa por el músculo
Glitazonas (Tiazolidindionas)	Pioglitazona	Reduce la producción de glucosa en el hígado. Actúa en músculo donde aumenta la sensibilidad de la insulina, reduce la resistencia a la insulina en tejido muscular
Inhibidores de la α -glucosidasa	Acarbosa Miglitol	Actúan en intestino delgado reduciendo la digestión y absorción de hidratos de carbono, reduciendo la glucemia.
Inhibidores de DPP-IV	Saxagliptina Sitagliptina	Estimulan la secreción de insulina e inhiben la secreción de glucagón, aumentando el GLP-1 endógeno
Antagonistas del receptor GLT-1	Exenatida Liraglutida	Estimulan la secreción de insulina e inhibe la secreción de glucagón
Inhibidores de SGLT2	Dapagliflozina Canagliflozina Empagliflozina	Aumenta la excreción renal de glucosa y disminuye sus valores plasmáticos con bajo riesgo de hipoglucemia
Insulina	Insulina humana (origen ADN recombinante)	Sustituye la insulina endógena

2.6 Hipertensión Arterial

Los vasos sanguíneos llevan la sangre desde el corazón a todo el organismo. Cada vez que el corazón late, bombea sangre a los vasos. La tensión arterial es producto de la fuerza con que la sangre presiona contra las paredes de los vasos sanguíneos (arterias), a medida que es bombeada por el corazón. La hipertensión arterial (HTA) es una afección donde la presión en los vasos sanguíneos es continuamente alta.

Cuanto más alta es la resistencia vascular periférica, mayor es la tensión arterial, y más esfuerzo hace el corazón para bombear la sangre. Si no se controla, la hipertensión provoca infarto de miocardio, hipertrofia ventricular e insuficiencia cardíaca. En los vasos sanguíneos la presión alta provoca dilataciones (aneurismas) y zonas de debilidad en la pared vascular, lo que aumenta las probabilidades de obstrucción y ruptura. La presión en los vasos sanguíneos también causa fugas de sangre en el cerebro y dar paso a accidentes cerebrovasculares. Además, la hipertensión provoca insuficiencia renal, ceguera, ruptura de los vasos sanguíneos y deterioro cognitivo **(OMS, 2022)**.

2.6.1 Datos Epidemiológicos

La hipertensión tiene alta prevalencia en la población general. De acuerdo a los registros, esta enfermedad representa 1 de cada 8 consultas en atención primaria, como mayor factor de riesgo atribuible a la mortalidad en todo el mundo, es responsable de más de la mitad de todos los casos de accidente cardiovascular y enfermedad coronaria o cardiopatía coronaria **(Bhagani et al., 2018)**. De acuerdo a la OMS, la hipertensión es un padecimiento multifactorial caracterizado por la elevación sostenida de la presión arterial sistólica, la presión arterial diastólica o ambas **(OMS, 2023)**.

La HTA sistémica es la condición de elevación persistente, no fisiológica de la presión sanguínea sistémica. Numerosos factores genéticos, ambientales y de comportamiento influyen en el desarrollo de la hipertensión. A su vez, la hipertensión se ha identificado como el principal factor de riesgo causal para la enfermedad cardiovascular, incluyendo enfermedad cardíaca, enfermedad vascular periférica y la apoplejía, así como la enfermedad renal **(Ota et al., 2017)**.

2.6.2 Tipos de Hipertensión

Se conocen dos tipos de HTA; la hipertensión primaria o esencial y la hipertensión secundaria. La hipertensión primaria afecta al 95% de los casos de HTA sistémica, es idiopática, poligénica y multicausal por factores de riesgo como: obesidad, sedentarismo, ingestión excesiva de sodio y consumo elevado de alcohol. Dichos factores alteran principalmente el Sistema Renina-Angiotensina, la función del endotelio, rigidez arterial, entre otras. Por otro lado, la hipertensión HTA secundaria se asocia a varias patologías: renal, vascular, endócrina (tiroides), del sistema nervioso central, inducidas por medicamentos, entre otras **(PROY-NOM-030-SSA2-2017)**.

2.6.3 Clasificación de hipertensión arterial

En la 17ª Conferencia Internacional de la Liga Mundial de Lucha contra la Hipertensión en 1997, seguían el criterio de los V, VI y VII Informes del *Joint Committee* (JNC) de HTA en los Estados Unidos de América, para considerar a un paciente con HTA con los valores $\geq 140/90$ mmHg **(Espinosa-Brito, 2018)**.

En el 2017, la Asociación Americana de Corazón (*American Heart Association, AHA*) y el Colegio Americano de Cardiología (*American College of Cardiology, ACC*), anunciaron cambiar la definición de presión alta, definiendo la presión sistólica en 130 mmHg o más como hipertensión, también considerando como hipertensos a los que tengan cifras de 80 mmHg o más de presión arterial diastólica (PA $>130/80$ mmHg), de aceptarse estas cifras, sólo en Estados Unidos, se aumentarían los hipertensos 32% a 46 % de los adultos **(Espinosa-Brito, 2018)**. En la tabla 2.6.3-1, se observa la comparación de las cifras de presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) aceptadas en el JNC y en las Guías ACC/AHA.

Tabla 2.6.3-1. Cifras de presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) aceptadas en el JNC y en las Guías ACC/AHA (**Tomada de Espinosa-Brito, 2018**).

PAS Y PAD (mg Hg)	JNC	AHA/ACC
<120 y <80	PA normal	PA normal
120 - 129 y <80	Prehipertensión	PA elevada
130 - 139 o 80 - 89	Prehipertensión	HTA Estadio 1
140 – 159 o 90 - 99	HTA Estadio 1	HTA Estadio 2
≥160 o ≥100	HTA Estadio 2	HTA Estadio 2

2.6.4 Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial

El manejo de la HTA plantea un desafío importante, una vez que las medidas en el estilo de vida de los pacientes no controlan la presión arterial (PA). Las estrategias de tratamiento farmacológico para disminuir la PA están bien descritas; sin embargo, las tasas bajas de control de la HTA sugieren que se necesita hacer más para superar el problema. Un problema importante en el tratamiento es la falta de adherencia a los fármacos antihipertensivos, que es causada en parte por la intolerancia a los medicamentos debido a los efectos secundarios. Por lo tanto, se requieren fármacos antihipertensivos más efectivos que tengan excelentes perfiles de tolerabilidad y seguridad, además de ser eficaces (**Oparil et al., 2015**).

Los fármacos antihipertensivos comprenden diferentes familias con diferentes mecanismos de acción. Las seis familias de fármacos propuestas por la OMS y la Sociedad Internacional de Hipertensión de primera línea son los diuréticos, antagonistas β -adrenérgicos, bloqueadores de canales de calcio, inhibidores de la enzima de convertidora de la

angiotensina (IECA), antagonistas α y antagonistas de los receptores AT1 de la angiotensina II (ARA II) (**Bragulat & Antonio, 2001**).

2.6.5 Tratamiento no farmacológico de la hipertensión arterial

Los factores de riesgo relevantes en la HTA son la obesidad y la falta de ejercicio, existen diferencias entre la prevalencia de la enfermedad debido a la variedad de ingesta de nutrientes. Está comprobado que la PA se asocia positivamente con una mayor ingesta de Na^+ , alcohol y proteínas, e inversamente asociado con la ingesta de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} (**Suter et al., 2002**).

Las intervenciones no farmacológicas ayudan a retrasar la progresión de la etapa de prehipertensión a HTA e incluyen modificaciones del estilo de vida como la dieta, ejercicio, evitar el estrés y reducir el consumo de alcohol. Hay ciertas pautas dietéticas que promueven el consumo de frutas, verduras, granos, productos lácteos y alimentos ricos en K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y fósforo, como la dieta mediterránea. Evitar el Na^+ en la alimentación tiene un gran potencial para la reducción de la PA, así como el estilo de vida estresante, la depresión y la ansiedad también ayudan a reducir el consumo excesivo de Na^+ en la dieta; se ha asociado al aumento del riesgo de HTA y enfermedades cardiovasculares. En el mundo hay 1.65 millones de defunciones anuales por causas cardiovasculares que se atribuyen ingesta excesiva de Na^+ . La OMS recomienda reducir la ingesta de sal a menos de 5 g/día (2 g/día de Na^+) para reducir la presión arterial y el riesgo de cardiopatía coronaria y accidente cerebrovascular. También está descrito que la actividad física regular reduce el riesgo de cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, diabetes, y cáncer de mama y de colon (**OMS, 2023**).

Está reportado que el ejercicio continuo puede emplearse como tratamiento adyuvante de enfermedades cardiovasculares y se ha demostrado, en estudios *in vivo*, la influencia del ejercicio sobre la función endotelial en la aorta de rata, con menor respuesta contráctil a la noradrenalina y mayor relajación por acetilcolina (**Martínez et al., 2017**).

2.7 Asma bronquial

El asma es un desorden inflamatorio crónico de las vías aéreas, donde mastocitos, eosinófilos y linfocitos T Helper ($\text{T}_{\text{H}2}$), sobre el epitelio bronquial originan broncoconstricción, y subsecuente estrechamiento difuso de la vía respiratoria. En individuos susceptibles esta

inflamación causa episodios recurrentes de sibilancias, disneas y tos, usualmente asociados con limitación variable, pero generalizada, del flujo aéreo espiratorio **(GINA, 2023)**. Fisiopatológicamente, se debe a la contracción variable del músculo liso traqueal, edema de la mucosa y al moco en la luz de los bronquios y bronquiolos; estas variaciones son inducidas por la liberación local de sustancias espasmógenas que provocan la contracción del músculo liso y liberación de sustancias vasoactivas, las cuales modifican el tono y calibre de los vasos sanguíneos **(Moore & Dalley, 2009)**. Como factor subyacente existe hiperreactividad bronquial, es decir, la tendencia incrementada a la broncoconstricción como respuesta a estímulos físicos y químicos, entre los cuales están: alérgenos, ejercicio, cambios climáticos, tabaco, contaminantes atmosféricos, infecciones respiratorias y fármacos, como el ácido acetilsalicílico o indometacina **(Katzung, 2017)**.

2.7.1 Epidemiología del Asma

En los últimos años se ha incrementado la prevalencia de asma alrededor del mundo. La OMS estimó 235 millones de personas con asma y 383,000 defunciones en 2018, y en 2019 estimó 262 millones de personas con asma y provocó 461,000 muertes. Por otro lado, GINA establece que 96% de las defunciones causadas por el asma fueron en países en vía de desarrollo. Actualmente se estima que el asma afecta a 300 millones de personas **(OMS, 2023; GINA, 2023)**.

2.7.2 Clasificación del Asma

Con base en su etiología, se clasifica en asma extrínseco e intrínseco. El asma extrínseco incluye a individuos con reacción antígeno-anticuerpo como desencadenante. En general, la reacción antígeno-anticuerpo es mediada por IgE (asma extrínseco atópico), mientras que en los de origen ocupacional no hay reacción de hipersensibilidad tipo I (asma extrínseco no atópico).

El asma intrínseco es un término más amplio, y se aplica a un grupo heterogéneo de pacientes con la característica de que no se detecta un antígeno concreto como causa precipitante, este tipo tiene características que lo diferencian del tipo extrínseco, como que

comienza en la vida adulta, se asocia con pólipos nasales, sinusitis maxilar, y/o idiosincrasia a la aspirina y/u otros antiinflamatorios no esteroideos, además, es de curso crónico con frecuente uso de esteroides orales para su control **(GINA, 2023)**.

Por otro lado, debido a los procesos patológicos subyacentes, se clasifica por características demográficas, clínicas y/o fisiopatológicas, denominadas “fenotipos del asma”, entre ellas: asma alérgica, asma no alérgica (de tipo neutrofílico y paucigranulocítico), asma de inicio tardío en la edad adulta, asma con limitación persistente del flujo de aire, asma con obesidad **(GINA, 2023)**.

2.7.3 Mecanismo inmunológico del asma alérgica

En el asma alérgica hay una secuencia de acontecimientos que inicia con la presentación del antígeno (alérgeno), con los linfocitos T *Naive* CD4⁺ mediante células presentadoras de antígeno. Esto desencadena la respuesta de células T Helper tipo 2 (T_H2), que liberan varias citocinas, incluidas IL-4, IL-5 e IL-13, responsables de la hipersensibilidad inmediata. La IL-4 estimula la diferenciación de los linfocitos B para producir inmunoglobulina E (IgE), la IL-5 activa a los eosinófilos que mediante quimiocinas son reclutados al sitio de reacción, y la IL-13 regula, en el tejido epitelial, la proliferación de células caliciformes para la producir moco y mucina, importantes marcadores en el asma alérgica. Las IgE son fundamentales en la sensibilización de los mastocitos, que expresarán receptores de alta afinidad para la porción Fc de la IgE (FcεRI), y por exposición repetida al alérgeno, los mastocitos se activarán y liberan mediadores proinflamatorios por desgranulación. Entre los mediadores liberados hay: aminas vasoactivas (histamina), mediadores lipídicos (prostaglandinas y leucotrienos) y citocinas proinflamatorias (involucradas en la fase tardía). Entre las citocinas, el TNF-α, IL-1, IL-6, IL-4 e IL-5 amplificarán la reacción inmunitaria, así como la lesión tisular y la activación endotelial, que conduce a hiperreactividad nasal, congestión de la vía aérea superior y en la vía aérea inferior broncoconstricción prolongada, incremento de hiperreactividad aérea y su remodelación **(Kumar et al., 2013)**.

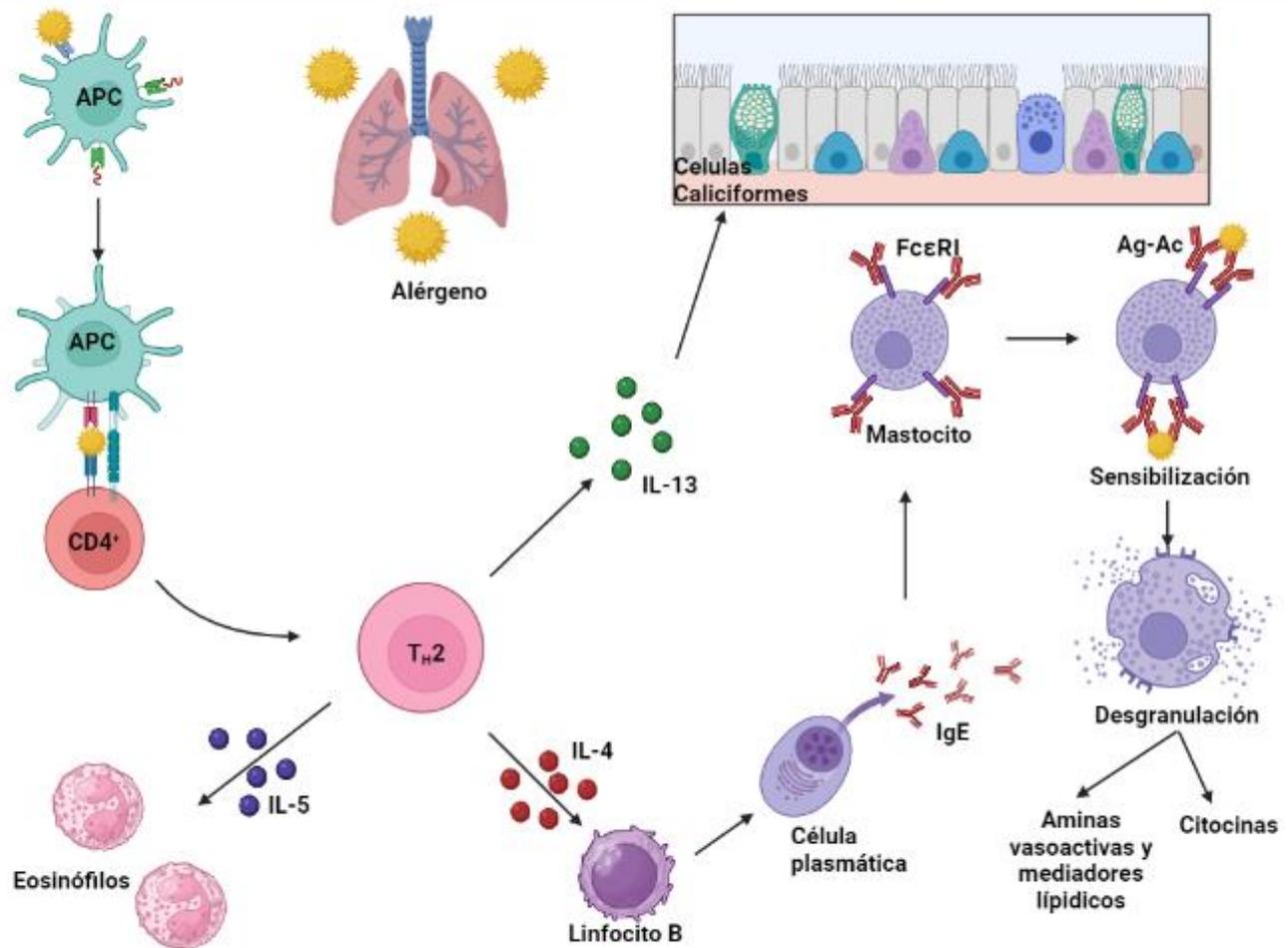


Figura 2.7.3-1. Mecanismo de sensibilización al alérgeno de las vías respiratorias. CPA, célula presentadora de ígenanto, FcεRI, receptor de alta afinidad a IgE, CD4+, linfocito T *Naive*.

2.7.4 Terapia farmacológica del asma

Para el control del asma se emplean múltiples esquemas terapéuticos, pero en todos debemos asegurarnos que el paciente respire aire lo más limpio posible, evite el contacto con alérgenos y utilice los medicamentos adecuados. El tratamiento farmacológico está orientado a disminuir el proceso inflamatorio, y en casos de crisis a contrarrestar la broncoconstricción que ocurre como resultado de la inflamación. Para disminuir este proceso agudo, se emplean glucocorticoides (prednisona, prednisolona, metilprednisolona e hidrocortisona); de manera preventiva se utilizan las cromonas (cromoglicato y nedocromil) y los bloqueadores de

leucotrienos (zileúton). Recientemente un anticuerpo monoclonal inhibidor de IgE (omalizumab) está disponible en el mercado **(Perpiñá y Lloris 2004)**. Para la broncodilatación los fármacos más efectivos son agonistas de los receptores β_2 adrenérgicos del MLVA (salbutamol, terbutalina, tulobuterol, etc.), anticolinérgicos (bromuro de ipratropio) y poco empleadas las metilxantinas (teofilina) cuyos efectos disminuyen la secreción mucosa y facilitan el movimiento ciliar. Sin embargo, a pesar de la amplia gama de fármacos para tratar el asma, hay que destacar los frecuentes efectos secundarios de estos medicamentos y que el límite entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica es muy pequeño; dado lo anterior, es de vital importancia desarrollar nuevos fármacos, con blancos terapéuticos novedosos que coadyuven a atacar el proceso fisiopatológico del asma.

2.8 Cumarinas

Las cumarinas pertenecen a una gran clase de compuestos fenólicos, presentes en las plantas, y son anillos fusionados de benceno y α -pirona (figura 2.8-1). Se han identificado más de 1,300 cumarinas como metabolitos secundarios de plantas, bacterias y hongos **(Iranshahi et al., 2009)**. Las cumarinas se han encontrado en muchas especies distribuidas en varias familias, entre ellas, la familia Compositae (Asteraceae).

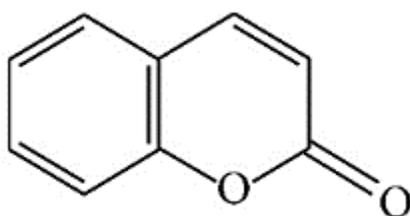


Figura 2.8-1. Cumarina

Aunque las investigaciones especifican que están distribuidas por todas las partes de la planta, las cumarinas predominan en frutos, semillas, seguido de las hojas y al último las

raíces. Así como también hay algunos aceites esenciales. Se conoce que las condiciones ambientales y los cambios estacionales, podrían influir en la incidencia y concentración de cumarinas en diversas partes de la planta. La función de las cumarinas en la planta aún no está clara, sin embargo, parecen ser reguladores del crecimiento, bacteriostáticos, fungistáticos e incluso productos de desecho (Venugopala et al., 2013).

Existen diferentes tipos de cumarinas (figura 2.8-2) debido a cambios estructurales, provocadas por sustituciones y conjugaciones con lo que varían sus propiedades fisicoquímicas, y como resultado que las aplicaciones terapéuticas dependan del patrón de sustitución.

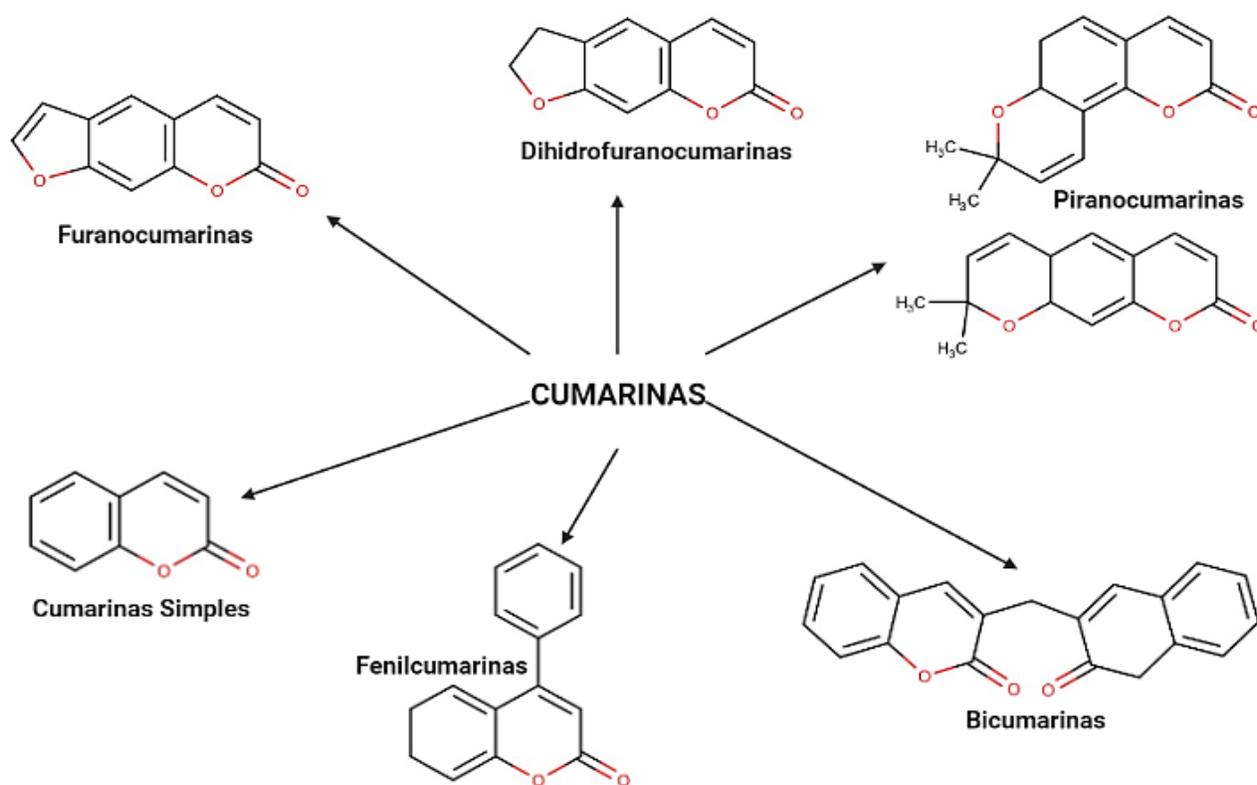


Figura 2.8-2. Clasificación de las cumarinas naturales, en seis tipos según la estructura química.

Por lo que poseen propiedades farmacológicas interesantes y diferentes, entre ellas: antiinflamatoria, anticoagulante, antibacteriana, antihipertensiva, antihiper glucémica, por mencionar algunas **(Venugopala et al., 2013)**.

2.8.1 Biosíntesis de Cumarinas

Se ha revisado parte de la biosíntesis de cumarinas, donde se menciona que se originan por la vía general de los fenilpropanoides, así como de la ruta del ácido shikímico **(Kuklinski, 2000)**.

En la figura 2.8.1-1 se muestra la vía fenilpropanoide de cumarinas, y se menciona que la biosíntesis de cumarinas hidroxiladas predominan la umbeliferona, herniarina y escoparona (estos dos últimos derivados metoxilados de la umbeliferona), y estas generan estructuras metoxiladas diferentes. Se conoce que la umbiliferona procede del ácido p-cumárico o de sus derivados éster (figura 2.8.1-1). La formación del ácido cinámico en ácido p-cumárico es catalizada por la cinamato 4-hidroxilasa (C4H), monooxigenasa de la familia CYP73A, esta enzima es la más estudiada de los citocromos P450 y asienta las bases para otras vías **(Bourgaud et al., 2006)**.

Se conoce que un paso importante para generar cumarinas metoxiladas, es la ortohidroxilación del ácido p-cumárico en 2,4-dihidroxicinámico por la ácido cinámico 2-hidroxilasa, ya que converge en la formación de la umbiliferona. Por otro lado, a partir de la umbiliferona también se sintetizan furanocumarinas (lineales o angulares), pero en pasos iniciales de la vía se sintetizan cumarinas preniladas por las preniltransferasas, por lo que sería una vía para obtener diferentes cumarinas preniladas **(Bourgaud et al., 2006)**.

2.9 Planta medicinal *Tagetes lucida*

Tagetes lucida pertenece a las asteráceas, una familia de gran riqueza y diversidad biológica. Se incluye en el género *Tagetes* con muchas especies aromáticas autóctonas de América. Esta planta es empleada como alimento y condimento, y en la extracción de pigmentos **(Duke et al., 2009)**.

Esta especie es planta de ornamento, de uso ceremonial y en la medicina tradicional mexicana; el uso de la infusión y la decocción de las hojas y las flores es para atenuar la fiebre, resolver problemas menstruales, combatir la diarrea, contra los 'aires', protección de cultivos, combatir disentería por amibas, giardiasis y ascariasis, para estimular el sistema inmune y regular ansiedad y depresión, también tiene posibles usos en agricultura ecológica para biocontrol de insectos y hongos fitopatógenos **(Lara Ochoa, F., & Márquez Alonso, 1996; Mazari et al., 1999; Duke et al., 2009; Guadarrama et al., 2012; García-Sánchez et al., 2012; Gaitén et al., 2018)**.

Sus nombres comunes incluyen "pericón", "San Miguel", "flor de Santa María", "yerba anís", entre otros, y también su nombre común en náhuatl es "cuahuyauhtli, o "yahuhtli", que significa hierba de las nubes **(Estrada-Soto et al., 2021)**.

Tabla 2.9-1. Datos taxonómicos *Tagetes lucida*.

Reino	<i>Plantae</i>
Phylum	<i>Tracheophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Asterales</i>
Familia	<i>Compositae</i>
Género	<i>Tagetes</i>
Especie	<i>lucida</i>
Nombre científico	<i>Tagetes lucida</i> Cav.

Los antecedentes científicos reportan gran variedad química en las especies de *Tagetes* de América, que no se ha estudiado por completo. En México este género se distribuye en varios lugares y se estima gran diversidad en el perfil fotoquímico (**Serrato Cruz et al., 2008; Kurpis et al., 2019**); por ejemplo, existe variación del aceite esencial en *Tagetes minuta* asociada con la diversidad de hábitats (**Zygodlo et al., 1990**).

Actualmente en México, se han revalorado muchas especies de este género como fuente para la búsqueda de metabolitos secundarios con actividades farmacológicas de interés (**Green et al., 1991; Hernández et al., 2006, Serrato, 2014**).

Tagetes lucida es endémica de México, sin embargo, se ha distribuido en América central y del sur, se localiza en 800 a 2700 msnm (**Discover Life, 2014**). *Tagetes lucida* crece en lugares de clima templado (**Turner, 1996**), en una amplia gama de variantes edáficas, altitudinales y de relieve, no descritas en el contexto ecogeográfico de la especie. Es una planta herbácea perenne, erecta, con altura de hasta 80 cm, en general tiene varios tallos partiendo de la base, más o menos ramificados, sus hojas son simples, lineares a oblongas, de 2 a 10 cm de largo, de 0.5 a 2 cm de ancho, agudas a redondeadas en el ápice, posee inflorescencias dispuestas en corimbos, sus flores son liguladas, 3 o 4, de color amarillo (figura 2.9-2) (**Rzedowski et al., 2015**).



Figura.2.9-2. *Planta Tagetes lucida.*

3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes, el asma y la hipertensión arterial son padecimientos importantes, con los primeros lugares de morbilidad, no solo afectan a los adultos mayores, sino que incrementaron su prevalencia e incidencia en niños, adolescentes y jóvenes. Estos padecimientos asocian con el estilo de vida, como falta de actividad física, malos hábitos alimenticios, obesidad; además ~~el~~ hay factores que combinan predisposición genética, grave impacto social, económico y de salud pública, ya que disminuyen la calidad de vida del paciente, que se refleja en el deterioro de su salud, llegando incluso hasta la muerte. La baja adherencia al tratamiento por regímenes dietéticos durante demasiado tiempo, y a que la mayoría de fármacos tienen

efectos adversos y generan tolerancia. Esto motiva la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antidiabética, antiasmática y antihipertensiva como necesidad sustancial.

Así, se destaca la importancia de desarrollar estrategias de prevención, buscar nuevos tratamientos farmacológicos con mecanismos de acción novedosos y específicos, para mejor, eficacia y seguridad, con menos o nulos efectos secundarios. Esto se puede alcanzar con las plantas medicinales, las principales alternativas para descubrir nuevas moléculas con actividad biológica, ya que las especies vegetales producen una diversidad de estructuras moleculares con mecanismos de acción novedosos. En este contexto se pretende determinar el efecto antidiabético, antiasmático y antihipertensivo de la planta medicinal *Tagetes lucida*, para aportar las bases farmacológicas que den sustento a la acción de estas moléculas, resaltando su relevancia terapéutica y establecer potenciales candidatos a fármacos para tratar la diabetes, la hipertensión y el asma, y sus comorbilidades.

4. HIPÓTESIS

El extracto etanólico de la planta *Tagetes lucida* y el(los) compuesto(s) aislado(s) a partir de éste, tiene(n) efecto antidiabético, antihipertensivo y antiasmático, sin presentar efectos tóxicos evidentes.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antihiper glucémico, vasorrelajante y traqueorrelajante de la planta medicinal *Tagetes lucida*, así como caracterizar el (los) compuesto(s) responsables de tales actividades.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el extracto etanólico de *Tagetes lucida*.
- Determinar el efecto traqueorrelajante del extracto obtenido en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata.

- Determinar el efecto vasorrelajante del extracto obtenido en un modelo *ex vivo* de aorta aislada de rata.
- Realizar el fraccionamiento primario del extracto etanólico por cromatografía.
- Determinar el efecto traqueorrelajante y el vasorrelajante de las fracciones obtenidas del extracto más activo, así como aislar y purificar el (los) compuesto(s) presente(s) de la fracción(es) con mayor actividad por cromatografía.
- Evaluar el efecto del (los) compuesto(s) aislado(s) en modelos *ex vivo* de aorta y tráquea aislada de rata.
- Purificar el precipitado de *Tagetes lucida* por cromatografía en columna.
- Caracterizar el (los) compuesto(s) que presente(n) mayor actividad biológica con espectroscopía y espectrometría.
- Evaluar el efecto antihiper glucémico agudo del extracto etanólico y precipitado, así como los compuestos obtenidos de *Tagetes lucida* en curvas de tolerancia a la glucosa y a sacarosa.
- Evaluar la seguridad del extracto etanólico por ensayo de toxicidad aguda según la guía 423 de la OECD.

7. METODOLOGÍA

7.1 Recolección y preparación del material vegetal

La especie vegetal *Tagetes lucida* que se utiliza para este proyecto fue recolectada a finales de octubre del 2020, por el grupo de investigación del Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, de la Facultad de Farmacia (UAEM), en el poblado de Tres Marías, municipio de Huitzilac, Morelos.

7.2 Obtención del extracto etanólico

Se molió 150 g de *Tagetes lucida* seca, sometida a maceración exhaustiva con 600 ml de etanol (96%) durante 72 horas por triplicado. Posteriormente, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida en rotavapor (Buchi), obteniendo el extracto etanólico de *Tagetes lucida* (EEOHTI) (figura 7.2-1). Después el EEOHTI se sometió a cromatografía de placa fina (CCF), con sistema hexano-acetato (65:35), para conocer su perfil fitoquímico e identificar compuestos mayoritarios.

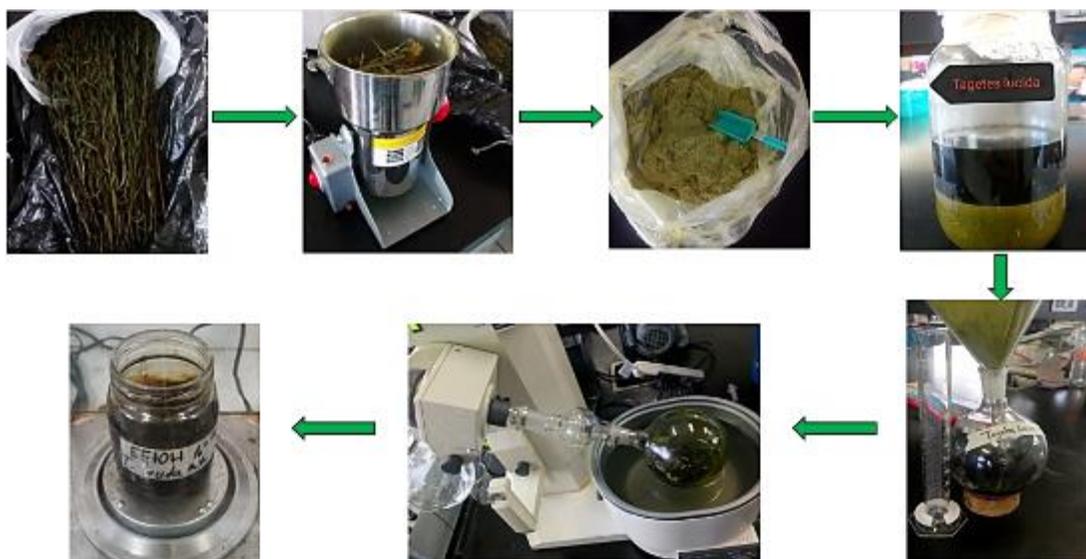


Figura.7.2-1. Proceso de obtención del extracto etanólico de *Tagetes lucida*.

7.3 Estudio fitoquímico del precipitado etanólico de *Tagetes lucida*

A partir del extracto etanólico de *Tagetes lucida* se obtuvo un precipitado, espontáneo, con algunas gotas de acetona. Este precipitado se sometió a purificación, con varios lavados por decantación del extracto con acetona en una centrifuga, se obtuvo un polvo sólido amarillo oscuro con peso total de 4.131 g, monitoreado por CCF. Los compuestos en el precipitado, se fraccionaron por cromatografía en columna abierta. El gel de sílice fue la fase estacionaria y la mezcla de disolventes, en gradiente de polaridad creciente, la fase móvil. La separación fue monitoreada por CCF, agentes reveladores y lámpara de luz U.V. Las fracciones se juntaron por similitud cromatográfica en capa fina. Una vez puros los compuestos, se empleó espectrometría y espectroscopía para su elucidación estructural.

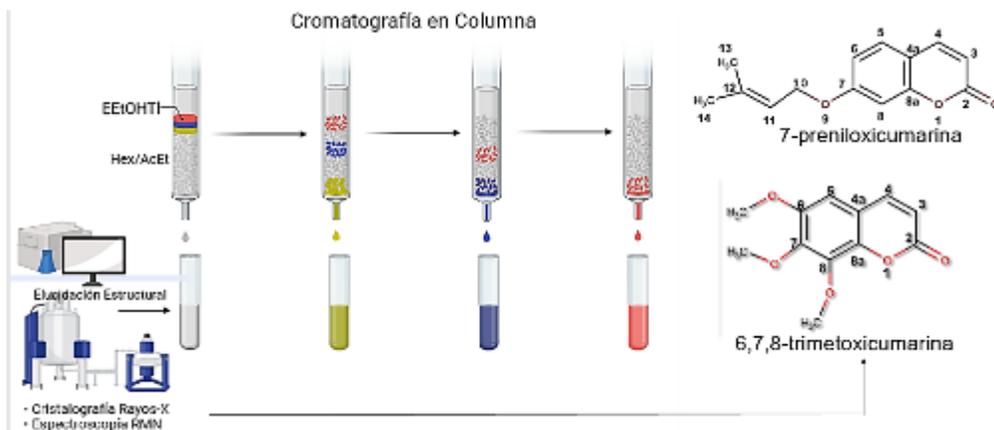


Figura.7.3-1. Proceso general de obtención y elucidación de los compuestos.

7.4 Uso y manejo de animales de experimentación

Los animales experimentales fueron ratas machos de la cepa Wistar de 230-250 g y ratones de la cepa C57BL/6 de 25-30 g. Se manipularon conforme a la Norma Oficial Mexicana **(NOM-062-ZOO-1999)**, de producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, expedida por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Los animales fueron destinados al uso experimental, se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio y se alimentaron con dieta comercial de *pellets* de roedores y agua *ad libitum*.

7.5 Determinación del efecto antihiper glucémico del extracto y compuestos obtenidos a partir de *Tagetes lucida*

7.5.1 Equipo

Se usó glucómetro y tiras reactivas de Accu-Chek® Performa de Roche, para la determinación de glucemia de los animales experimentales.

7.5.2 Análisis estadístico de los datos

Para determinar el efecto del extracto y el precipitado sobre la glucemia, los resultados representan las medias aritméticas con errores estándar, mostrados como gráficas de porcentaje de variación de glucemia con respecto al tiempo, empleando el programa GraphPadPrism v.8.0.+.

7.5.3 Evaluación Farmacológica *In vivo*

7.5.4 Curva de tolerancia a la glucosa

Para este experimento las ratas se pesaron y formaron 4 grupos (n=6): vehículo, glibenclamida, el precipitado y EEtoHTI, se les determinó la glucemia al inicio del experimento (T₀), después, al grupo 1 se administró 1 mL de agua (vehículo), al grupo 2, 5 mg/kg de glibenclamida, al grupo 3 se administró 50 mg/kg del precipitado y al grupo 4, 100 mg/kg del EEtoHTI disuelto en vehículo, las administraciones fueron por vía oral; 30 minutos después se dio un bolo de glucosa (2 g/kg) y a partir de este momento se midió la glucemia a las 0, 0.5, 1, 2 y 3 horas.

7.5.5 Curva de tolerancia a sacarosa

Para este experimento las ratas se pesaron y formaron 4 grupos (n=6): vehículo, acarbosa, precipitado y el EEtoHTI, se midió la glucemia al inicio del experimento (T₀), después, al grupo 1 se administró 1 mL de agua (vehículo), al grupo 2, 3 mg/kg de acarbosa,

al grupo 3, 50 mg/kg del precipitado y al grupo 4, 100 mg/kg del EEtOHTI disuelto en vehículo, las administraciones fueron por vía oral; 30 minutos después se les dio un bolo de sacarosa (2 g/kg) y a partir de este momento se midió la glucemia a las 0, 0.5, 1, 2 y 3 horas.

7.6 Evaluación Farmacológica *In silico*

7.6.1 Estudio de acoplamiento inverso (proteína-ligando) de los compuestos obtenidos sobre diferentes objetivos claves de la diabetes.

Se generó un cribado virtual inverso de los 4 compuestos obtenidos, en el servidor web DIA-DB (<http://bio-hpc.eu/software/dia-db/>) contra un conjunto de 18 objetivos clave asociados con la diabetes (**Sanchez et al., 2015**). Consiste en que la base de datos establecida compara la nueva estructura con toda la biblioteca molecular disponible, eso permite saber si la molécula de muestra posee potencial actividad antidiabética, se especifica en un modelo bidimensional el tipo de interacciones que presenta la molécula, un mapa tridimensional con la disposición espacial de la molécula sobre los blancos terapéuticos de forma individual, estas blancos terapéuticos son obtenidas del *Protein Data Bank* (PDB), los objetivos fueron aldosa reductasa (AKR1B1), AMY2A, DPP4, FBP1, receptor de ácidos grasos libres 1 (FFAR1), glucoquinasa (GCK), 11B-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (HSD11B1), receptor de insulina (INSR), MGAM, NR5A2, piruvato deshidrogenasa quinasa isoforma 2 (PDK2), PPAR α , PPAR δ , PPAR γ , PTPN9, glucógeno fosforilasa hepática (PYGL), RBP4 y receptor alfa de retinoide X (RXRA) (**Pereira et al., 2019**).

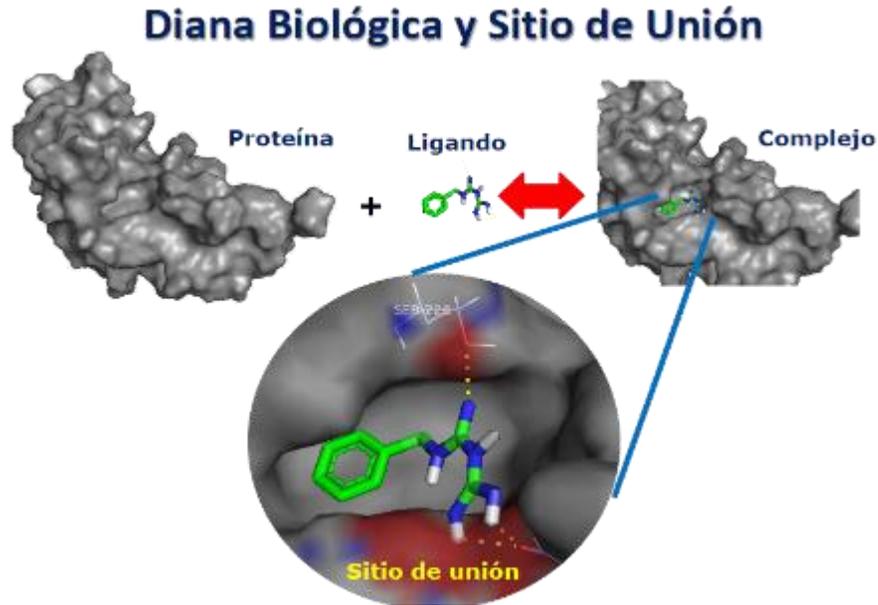


Figura.7.6-1. Representación de acoplamiento molecular.

7.7 Determinación del efecto vasorrelajante del extracto y compuestos aislados de *Tagetes lucida*

7.7.1 Reactivos

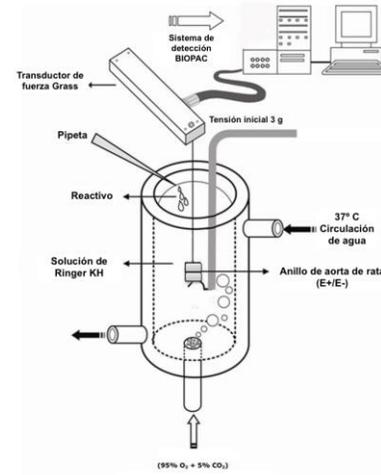
Para su evaluación se usaron los siguientes reactivos: Cloruro de carbacol, noradrenalina (NA), solución de Ringer-Krebs (NaCl, 118 mM; KCl, 4.7 mM; MgSO₄, 1.2 mM; KH₂PO₄, 1.2 mM; NaHCO₃, 25.0 mM; glucosa, 11.1 mM y CaCl₂, 2.5 mM). Adquiridos en Sigma-Aldrich Co.

7.7.2 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresan como el promedio \pm error estándar de la media (EEM). Las curvas concentración-respuesta se analizaron con el programa Origin 8.0[®].

7.7.3 Sistema de registro

Para determinar el efecto relajante de la muestra de prueba y controles, se utilizó un sistema de registro isométrico vertical para tejido aislado. En este sistema se sujetaron los anillos de aorta en la parte inferior de la cámara de incubación, conectado a un transductor de fuerza isométrico modelo Grass FT03[®], conectado a un sistema Biopac[®].



schematic diagram of set trachea and preparation in an org

Figura 7.2.3-1. Ilustración del sistema

7.7.4 Obtención del tejido de aorta

Los roedores, se eutanizaron, y se hizo disección abdominal para aislar la aorta. Esta se colocó en solución fisiológica de Ringer-Krebs a 37°C y se limpió del tejido conectivo adyacente y mucosidad, evitando daño en tejido muscular y endotelial. Posteriormente, se cortaron 6 anillos de aorta de 3-4 mm de longitud y se colocaron en una cámara de incubación con 10 mL de solución de Ringer-Krebs. Cuando fue necesario en el experimento, se removió el endotelio cuidadosamente de manera mecánica.

7.7.5 Evaluación Farmacológica *In vitro*

7.7.6 Sistema de determinación del efecto vasorrelajante

Para determinar el efecto vasorrelajante, los anillos de aorta colocaron en una cámara de incubación con 10 mL de solución de Ringer-Krebs, constantemente burbujeada con mezcla de gas carbógeno (O_2/CO_2 , 95:5), mantenida a 37°C y pH de 7.4, con un baño recirculador. Cada anillo se colocó por separado en la cámara de incubación, enganchado al fondo de la cámara y por el otro extremo, a un traductor de fuerza Grass FT03.

7.7.7 Determinación del efecto vasorrelajante

Los anillos se sometieron a tensión basal de 3 gramos de fuerza y se dejaron en estabilización 20-30 minutos. Después el tejido fue sensibilizado durante 15 minutos con NA [0.1 μM], con intervalos de 30 minutos, por triplicado. Después de cada estimulación del tejido, se lavó con Ringer-Krebs para recuperar la tensión basal. Para verificar la presencia de endotelio, se adicionó carbacol [1 μM] antes del último lavado en la tercera contracción. Los anillos de aorta que mostraron relajación, se consideraron con endotelio íntegro.

El tejido sensibilizado se incubó con el extracto y con los compuestos, ambos a diferentes concentraciones acumulativas. Con ello se construyeron curvas concentración-respuesta, se analizó con el software AcqKnowledge (Biopac®).

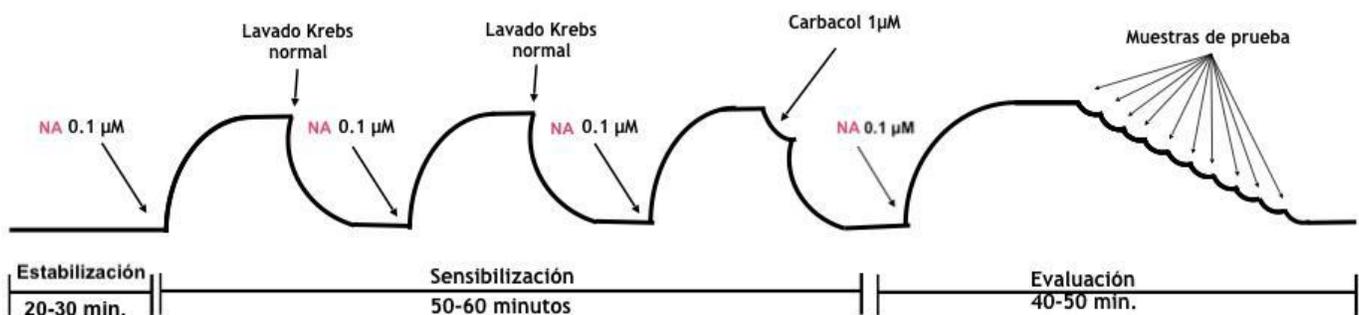


Figura 7.7.7-1. Esquema representativo de la evaluación del efecto vasorrelajante en anillos de aorta aislada de rata.

7.8 Determinación del efecto traqueorrelajante del extracto y compuestos obtenidos de *Tagetes lucida*

7.8.1 Reactivos

Para su evaluación se usaron los siguientes reactivos: Cloruro de carbacol, noradrenalina (NA), y solución de Ringer-Krebs

7.8.2 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresan como el promedio \pm error estándar de la media (EEM). Las curvas concentración-respuesta se analizaron con el programa Origin 8.0[®].

7.8.3 Obtención de la tráquea

Para la obtención de los segmentos de tráquea, los animales se eutanizaron, después se hizo disección en el cuello para extraer la tráquea, se limpió de tejido conectivo, y se cortó en segmentos de 3-5 mm de longitud.

7.8.4 Evaluación Farmacológica *In vitro*

7.8.5 Sistema de determinación del efecto traqueorrelajante, registro de datos.

Para determinar el efecto traqueorrelajante, los anillos se colocaron en 10 mL de solución de Ringer-Krebs [(mM) NaCl (118), glucosa 11.4, NaHCO₃ (25), KCL (4.7), MgSO₄ (1.2), KH₂PO₄ (1.2), CaCl₂ (2.5)], a pH 7.4 y con burbujeo constante de una mezcla O₂/CO₂ (95:5%), la solución se mantuvo a 37°C, con un baño recirculador. Cada anillo se colocó en la cámara de incubación enganchado al extremo de la cámara y, a un transductor de fuerza Grass FT 03, el cual emite los registros, y los envía a un polígrafo Biopac systems UIM 100C (figura 7.8.5-1).

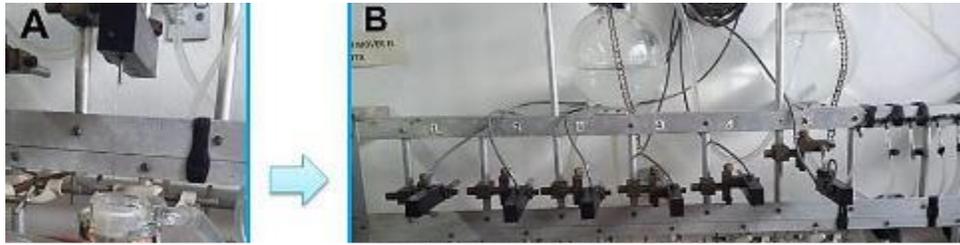


Figura 7.8.5-1. Sistema de determinación del efecto traqueorrelajante **A:** Cámara de incubación en condiciones fisiológicas, **B:** Transductor de fuerza Grass modelo FT 03.

7.8.6 Evaluación del efecto traqueorrelajante

Los anillos se sometieron a 2 gramos de fuerza de tensión basal y se estabilizó por 30 minutos. Posteriormente, el tejido se sensibilizó por 15 minutos con carbacol (análogo de acetilcolina $1\mu\text{M}$), con intervalos de 30 minutos (por duplicado). Después de cada estimulación el tejido se lavó con solución Ringer-Krebs, para recuperar la tensión basal. Con el tejido sensibilizado y contraído con el agonista, se incubó con las diferentes concentraciones del extracto, así como del precipitado de forma acumulativa [3 a $1000\mu\text{g/mL}$] en adiciones con $\frac{1}{4}$ de logaritmo (Figura 7.8.6-1). Posteriormente, se construyeron curvas concentración-respuesta (CCR), se analizó con el programa AcqKnowledge (Biopac).

El control positivo fue teofilina, inhibidor de fosfodiesterasas, que impide la hidrólisis de AMP_c y GMP_c (Burnouf y Pruniaux, 2002, Billah et al., 2002). El vehículo para las muestras de prueba fue DMSO (cuyo efecto sobre el tejido no es significativo al 10%) (Vergara et al., 2008; Farias et al., 2010).

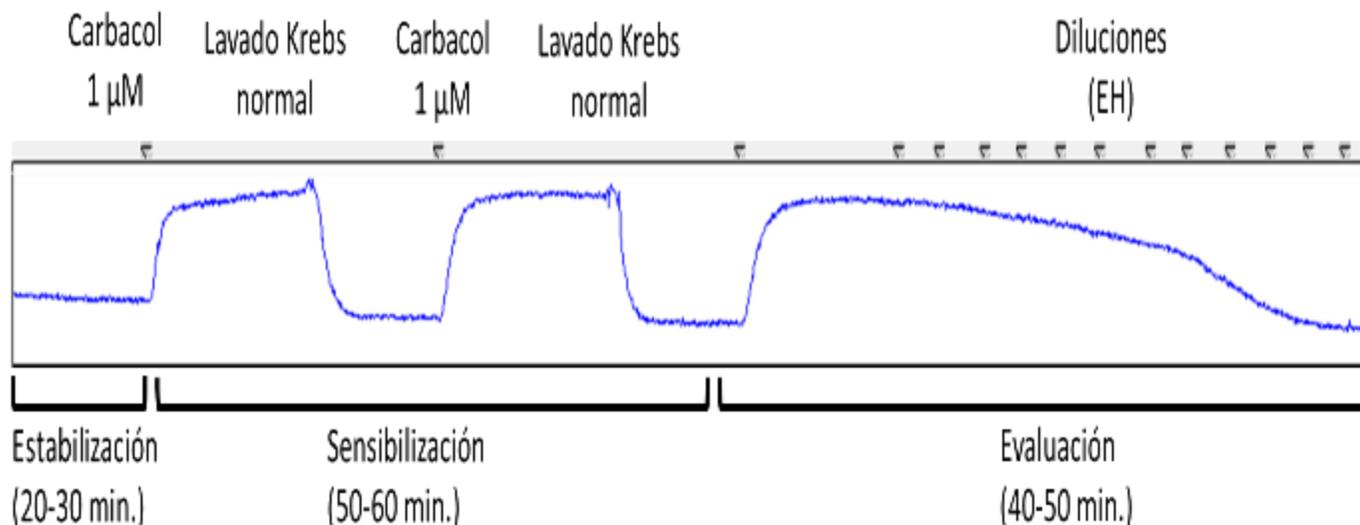


Figura 7.8.6-1. Evaluación del efecto traqueorrelajante del extracto etanólico y precipitado de *Tagetes lucida*. Esquema representativo de la evaluación del efecto traqueorrelajante en anillos de tráquea aislada de rata.

7.9 Evaluación Toxicológica

7.9.1 Toxicidad Oral Aguda

Para determinar el posible efecto letal agudo del extracto a diferentes dosis, se llevará ensayó la toxicidad aguda de acuerdo al apartado 423 de la Guía de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OECD, 2001).

Para el ensayo hubo cuatro grupos de ratones hembra de la cepa Balb/c (n=3) con ayuno de 4 horas y agua *ad libitum*. A cada grupo se le administró el EEtOHTI a las dosis de: 5, 50, 300 y 2,000 mg/kg. Los ratones tratados se observaron al menos una vez durante 30 minutos, a lo largo de 4 horas, a las 24 horas y durante 14 días. Se estableció el efecto en cada dosis y se categorizó de acuerdo al Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado (SGH).

7.10 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.10.1 Obtención del extracto etanólico

A partir de 150 g de material vegetal de la planta íntegra *Tagetes lucida*, y tras maceración exhaustiva con etanol (96%) 72 h por triplicado, se obtuvo 11.45% de rendimiento que corresponde a 17.175 g de extracto.

7.10.2 Placas Cromatográficas

Con el fin de monitorear y conocer el perfil fitoquímico del extracto etanólico, se empleó CCF, lo cual permitió observar algunos compuestos en mayor abundancia, de manera cualitativa. Se probaron tres sistemas de elución (figura 7.10.2-1), se utilizó hexano y acetato de etilo (fase móvil) en proporciones: 80:20, 70:30 y 65:35, y se identificó que el sistema hexano-acetato a 65:35 separó mejor los compuestos del EEtOHTI, por lo que se eligió este sistema.

Se pueden apreciar varios compuestos y en la parte inferior de la placa se observan dos compuestos en mayor abundancia (recuadro amarillo) (figura 7.10.2-1).

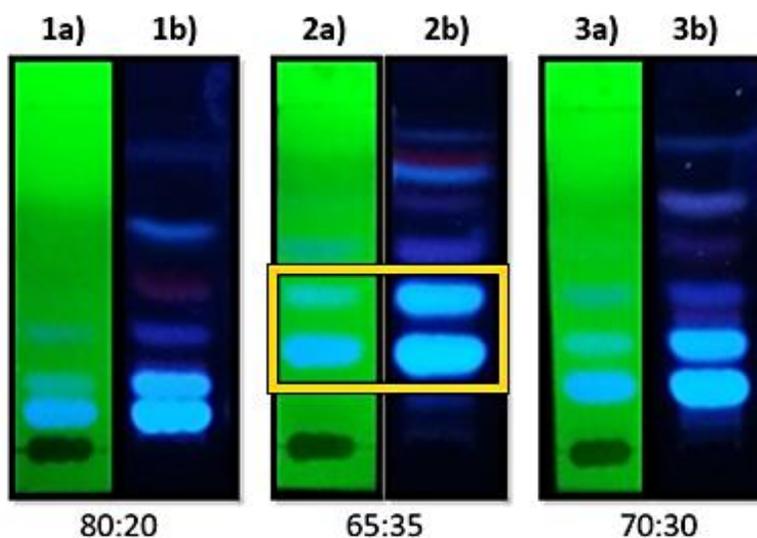


Figura 7.10.2-1. EEtOHTI en sistemas de elución con hexano-acetato a diferentes proporciones (80:20, 70:30 y 65:35), observadas en U.V. a longitud de onda corta 380nm (1a, 2a y 3a) y larga 750 nm (1b, 2b y 3b).

Partiendo del extracto etanólico de *Tagetes lucida* se obtuvo un precipitado espontáneo con acetona. Después de purificar por decantación, se corrió una CCF con el sistema mencionado, y se estableció que el precipitado contiene los dos compuestos de mayor abundancia extracto etanólico (figura 7.10.2-2), sin embargo, el compuesto rojo del recuadro está en menor proporción que el compuesto verde del recuadro.

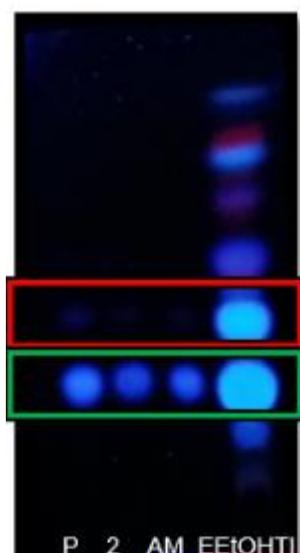


Figura 7.10.2-2. CCF del precipitado limpio (P), primeras lavadas (2) y aguas madres (AM) vs. extracto (EEtOHTI) en un sistema hexano-acetato 65:35, observada en U.V. a longitud de onda larga 750 nm.

Se corrió una CCF (65:35, hexano-acetato) del precipitado vs. Umbeliferona y 6,7-Dimetoxicumarina, ya que parte de la composición fitoquímica de *Tagetes lucida* corresponde a cumarinas. Además, de acuerdo a varias investigaciones, las cumarinas tienen potencial actividad vasorrelajante, antiasmática y antidiabética (Estrada-Soto et al., 2021; Li et al., 2017).

Como se observa en la figura 7.10.2-3, el compuesto en mayor abundancia en el precipitado eluyó a una distancia muy similar a 6,7-dimetoxicumarina, y se corroboró con otra CCF del extracto.

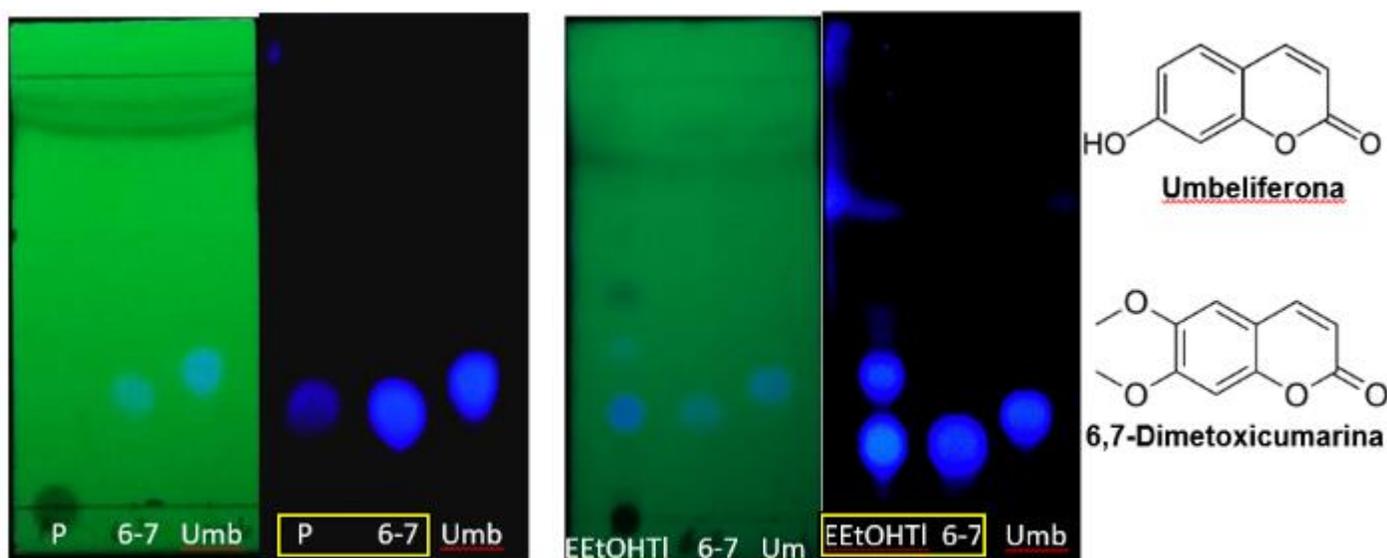
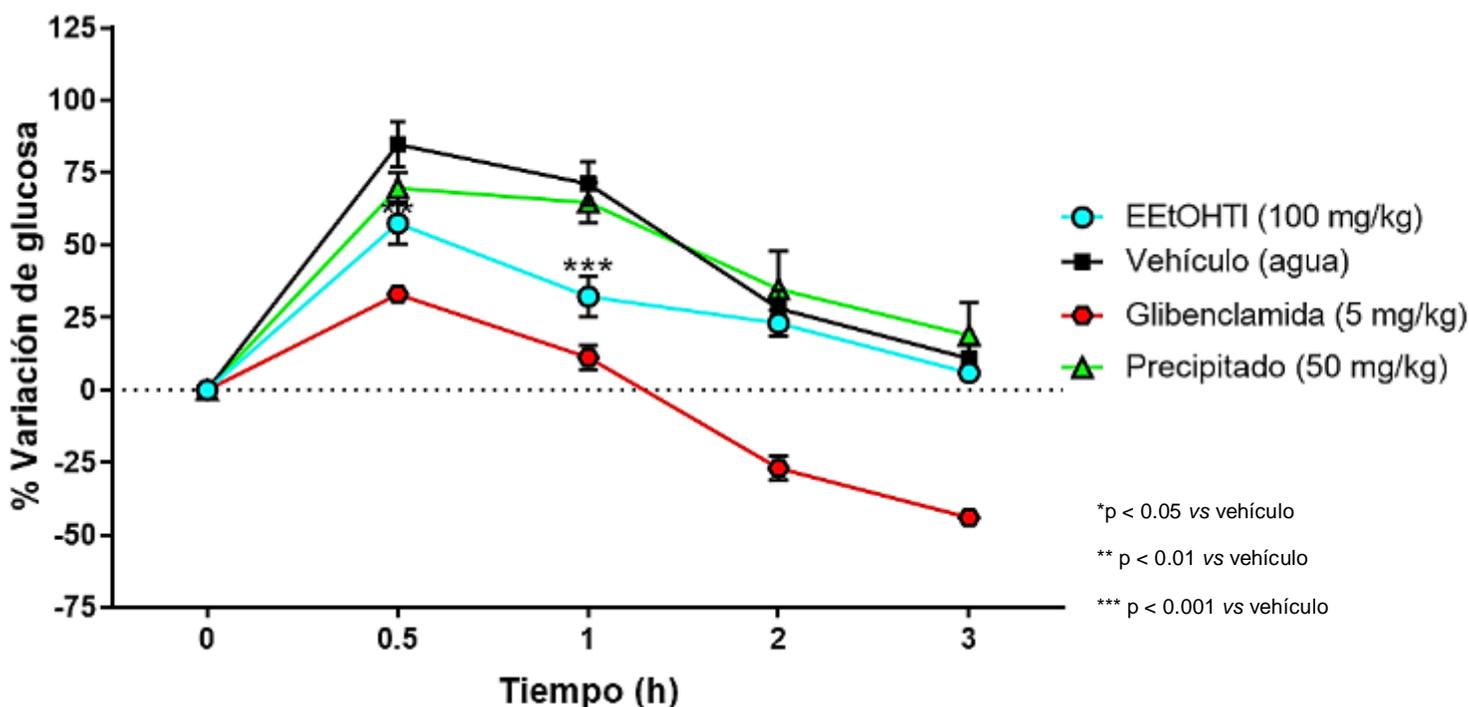


Figura 7.10.2-3. CCF (hexano-acetato, 65:35) del precipitado (P) vs. 6-7, dimetoxicumarina (6-7) y umbeliferona (Umb), observadas en U.V. a longitud de onda corta 380nm y larga 750 nm

7.11 Evaluación Farmacológica *In vivo*

7.11.1 Curva de tolerancia a glucosa

En las gráficas 7.11.1-1 se muestran las curvas de tolerancia a la glucosa, en ratas normoglucémicas, para determinar la actividad antihiper glucémica del EEtOHTI y del precipitado, a dosis de 100 mg/kg y 50 mg/kg, respectivamente. Como se observa las ratas tratadas con EEtOHTI a dosis de 100 mg/kg (azul) disminuyeron el pico hiper glucémico a la 0.5 h y este efecto se mantiene hasta la hora 1 con respecto al vehículo. El precipitado (verde), no tuvo disminución significativa en la variación de glucosa con respecto al vehículo, sin embargo, hubo ligera disminución del pico hiper glucémico a la 0.5 hora.



Gráfica 7.11.1-1. Ensayo de tolerancia a glucosa en ratas normoglucémicas de EEtOHTI (100 mg/kg), vehículo (agua), glibenclamida (5 mg/kg) y precipitado (50mg/kg), administrados por vía oral. Cada grupo representa a la media (n=6± EE).

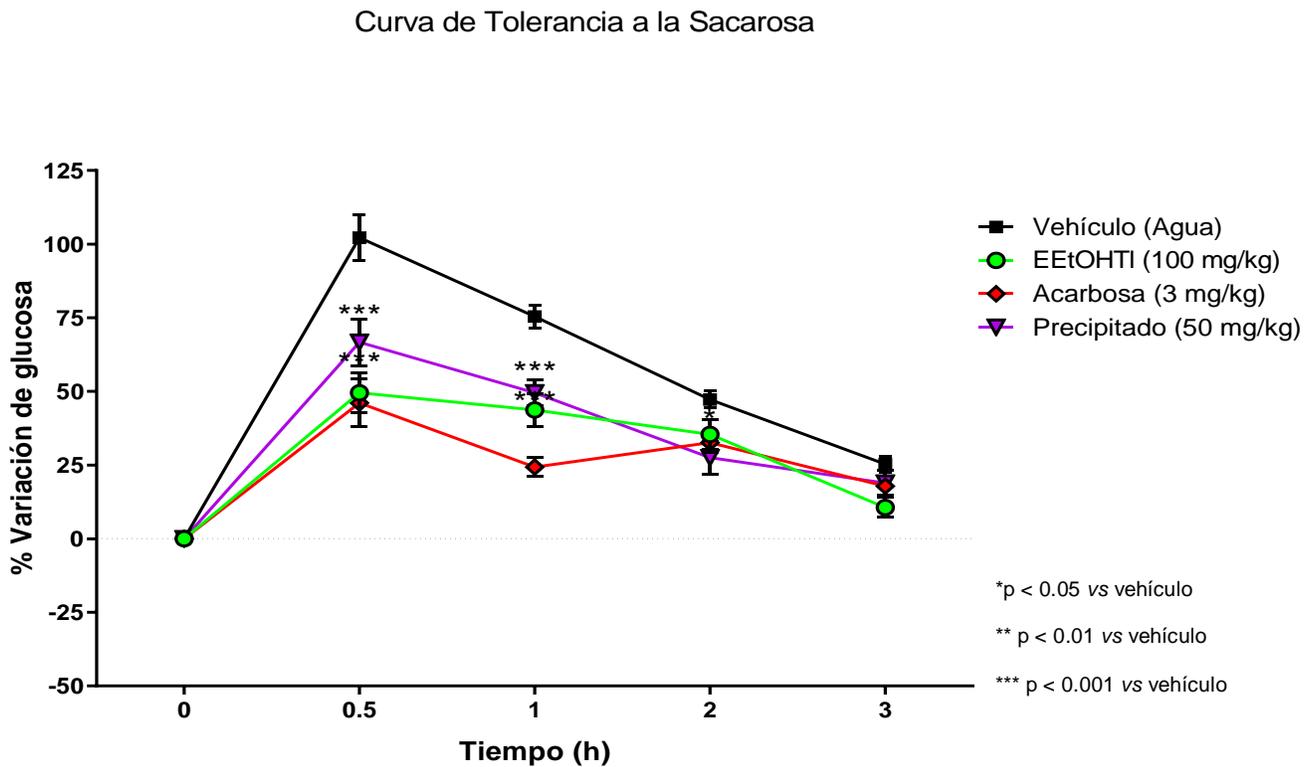
El efecto de EEtOHTI a 0.5 y 1 hora sugiere que el extracto actúa bloqueando los transportadores y/o cotransportadores de glucosa (GLUT-2, SGLT-1) localizados en el intestino (**Ortiz-Andrade, 2007**), o bien por pre-sensibilización de insulina, ya que se administró 30 minutos antes de la carga de glucosa (**Chávez-Silva et al., 2018**). Con respecto al precipitado a 50 mg/kg, no disminuyó la glucemia vs. el vehículo, esto indica que no hay compuestos con propiedades antihiperoglucémicas en el precipitado, o no hay suficiente cantidad para ejercer algún efecto, ya que, aunque no hubo significancia estadística, se aprecia ligera disminución del pico hiperoglucémico a la 0.5 hora, además de que puede haber factores que impidan la buena absorción de los compuestos.

7.11.2 Curva de tolerancia a sacarosa

La gráfica 7.11.2-1 muestra las curvas de tolerancia a la sacarosa, en ratas normoglucémicas, para determinar la actividad antihiperoglucémica con mecanismos extrapancreáticos. Como se observa las ratas tratadas con el precipitado a 50 mg/kg (morado) tuvo diferencia significativa vs. vehículo, a la 0.5 hora (disminuyó el pico hipoglucémico) y siguió este patrón hasta la hora 1 (** $p < 0.001$), en la hora 2 tuvo poca disminución significativa (* $p < 0.05$) vs. las horas anteriores. El EEtOHTI 100 mg/kg mostró el mismo patrón que el precipitado (evitó el pico hiperoglucémico), a la 0.5 hora y a la hora 1 (** $p < 0.001$).

El EEtOHTI disminuyó la glucemia, el mecanismo de acción es vía inhibición de las α -glucosidasas (mecanismo extrapancreático). La inhibición de estas enzimas por EEtOHTI impediría la hidrólisis de la sacarosa administrada, reflejado en la menor cantidad de glucosa

disponible y retardo en su transporte, evitando el pico hiperglucémico y mantenimiento de la glucosa postprandial hasta la hora 1 (Chen, 2017). Este mecanismo de acción es atribuible a los compuestos en el extracto, ya que los compuestos polares, como flavonoides y glucosilados inhiben las enzimas (Santa-Cruz y Zacarías-Castillo, 2002; Ramírez, et al., 2012). El precipitado mostró un patrón muy similar al extracto (disminución del pico hiperglucémico), con diferencia desde la hora 0.5 hasta la hora 2 vs. vehículo (*** p < 0.001), e indica la inhibición de las α -glucosidasas. Adicionalmente, pueden participar los mecanismos observados en la CTG.

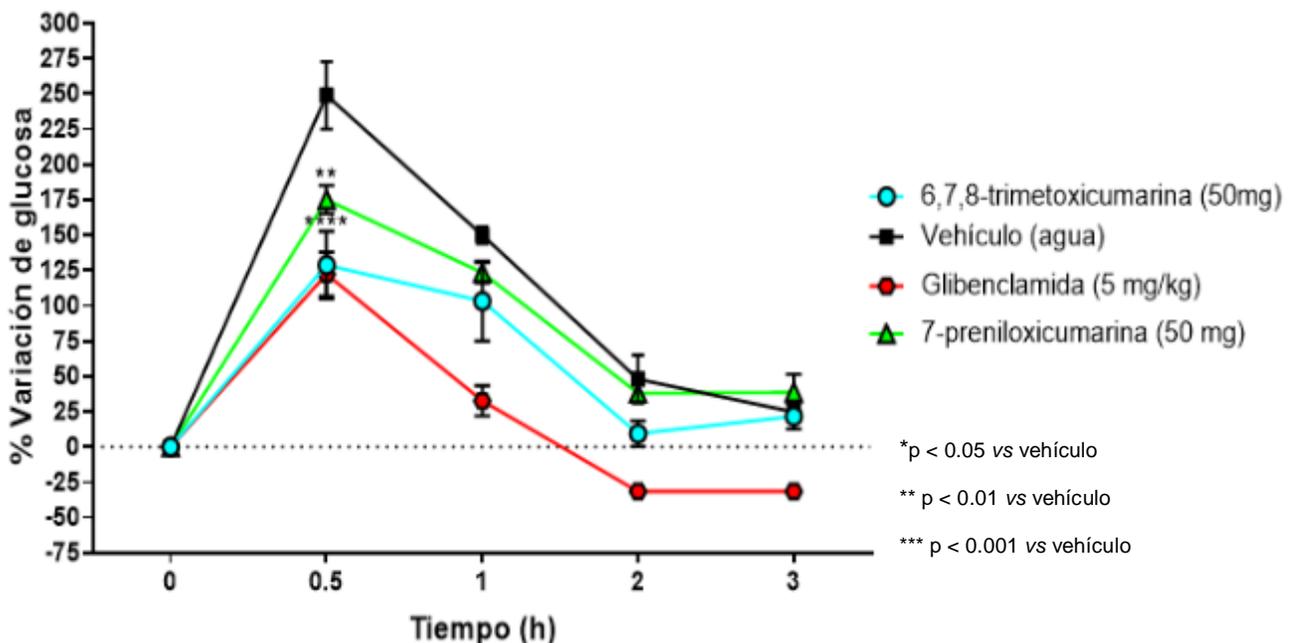


Gráfica 7.11.2-1. Ensayo de tolerancia a sacarosa en ratas normoglucémicas de EEtOHTI (100 mg/kg), vehículo (agua), acarbosa (3 mg/kg) y precipitado (50 mg/kg), administrados por vía oral. Cada grupo representa a la media (n=6± EE).

7.11.3 Curva de tolerancia a glucosa con 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina, 7-metoxicumarina y 7-preniloxicumarina.

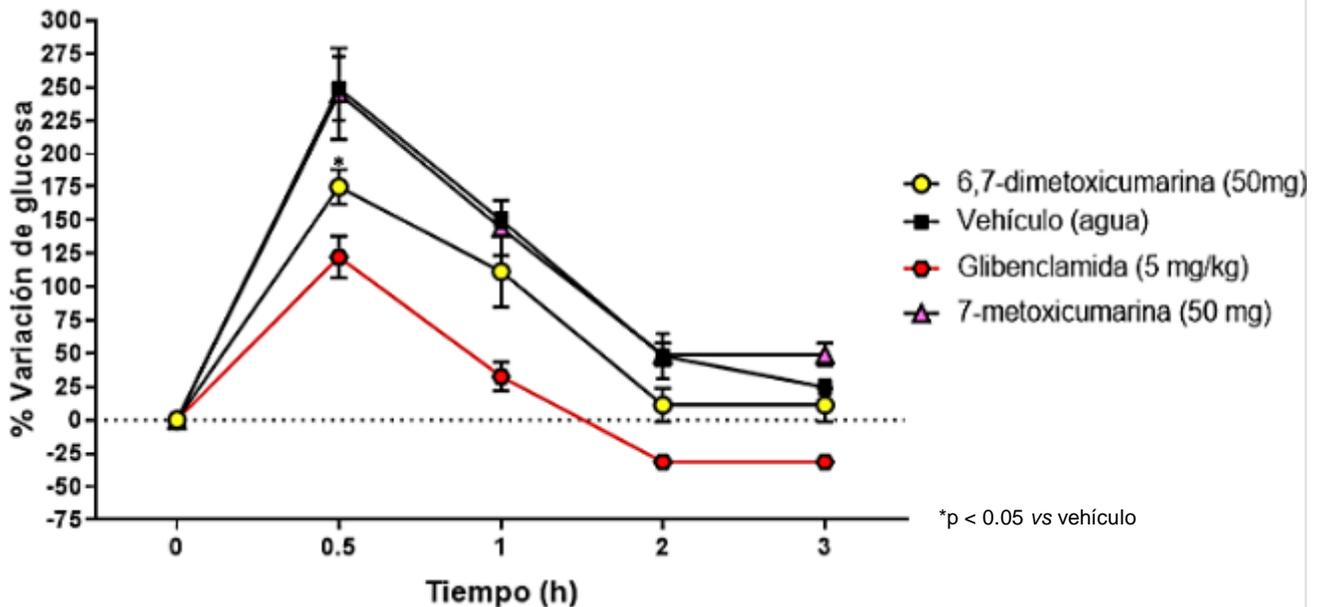
En las gráficas 7.11.3-1 y 7.11.3-2 se muestran las curvas de tolerancia a la glucosa, en ratones normoglucémicos de la cepa C57BL/6, para determinar la actividad antihiper glucémica de 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina, 7-metoxicumarina y 7-preniloxicumarina a dosis de 50 mg/kg.

Como se observa en la gráfica 7.11.3-1, en el grupo de ratones tratados con 6,7,8-trimetoxicumarina a la dosis 50 mg/kg (azul) disminuyó el pico hiperglucémico a la 0.5 h, efecto que se mantuvo hasta la hora 2 con respecto al vehículo. El compuesto 7- preniloxicumarina (verde), disminuyó significativamente la glucemia con respecto al vehículo a la media hora, y este patrón se observa hasta la hora 1.



Gráfica 7.11.3-1. Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos con 6,7,8-trimetoxicumarina (50 mg/kg), vehículo (agua), glibenclamida (5 mg/kg) y 7-preniloxicumarina (50mg/kg), administrados por vía oral. Cada grupo representa a la media ($n=6 \pm EE$).

Como se puede observar en la gráfica 7.11.3-2, en el grupo de ratones tratados con 6,7-dimetoxicumarina a la dosis 50 mg/kg (amarillo), disminuyó el pico hiperglucémico a la media hora (* $p < 0.05$ vs. vehículo), sin embargo, a partir de la hora 1 no hay efecto significativo en comparación al vehículo, este patrón antihiperglucémico se mantuvo 3h. Por otro lado, el compuesto 7-metoxicumarina (morado) no tuvo efecto antihiperglucémico.



Gráfica 7.11.3-2. Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos con 6,7-dimetoxicumarina (50 mg/kg), vehículo (agua), glibenclamida (5 mg/kg) y 7-metoxicumarina (50mg/kg), administrados por vía oral. Cada grupo representa a la media ($n=6 \pm EE$).

7.11.4 Estudio de acoplamiento inverso (proteína-ligando) de los compuestos obtenidos sobre diferentes blancos claves de la diabetes.

Los resultados en la tabla 7.11.4-1 muestran 8 blancos claves de los 18, estos obtuvieron mejor energía de afinidad hacia los 4 compuestos. Como se observa en la tabla, cada blanco tiene energía de afinidad buena con respecto a la energía promedio de unión de

medicamentos conocidos, así como agonistas y antagonistas obtenidos de la base de datos *Protein Data Bank*.

Tabla 7.11.4-1. Resultados del acoplamiento inverso de los compuestos sobre 8 diferentes blancos claves de la diabetes del servidor web DIA-DB. Fuente: <http://bio-hpc.eu/software/dia-db/>.

Target	Código PDB	Puntuación promedio de unión de medicamentos conocidos (kcal / mol)	Limite de acoplamiento (kcal / mol)	Energía de afinidad de 7-metoxicumarina (kcal / mol)	Energía de afinidad de 6,7-dimetoxicumarina (kcal / mol)	Energía de afinidad de 6,7,8-trimetoxicumarina (kcal / mol)	Energía de afinidad de 7-preniloxicumarina (kcal / mol)	
1	PPAR-Delta	3PEQ	-9.30	-10.00	-7.5	-7.5	-6.2	-7.4
2	PPAR-Gamma	2FVJ	-9.70	-10.00	-7.0	-7.0	-6.4	-7.3
3	DPP4	4A5S	-8.50	-9.00	-6.4	-6.5	-5.8	-7.6
4	Glucocinasa (GCK)	3IMX	-9.40	-10.00	-7.7	-7.7	-6.5	-7.5
5	PPAR-alfa	3FEI	-7.60	-8.00	-6.4	-6.4	-6.0	-6.6
6	Receptor de ácido graso libre 1 (FFAR1)	4PHU	-10.00	-10.50	-7.0	-7.0	-6.2	-9.1
7	Aldosa reductasa (AKR1B1)	3G5E	-9.95	-10.50	-8.0	-8.0	-6.3	-8.5
8	Proteína tirosina fosfatasa (PTPN9)	4GE6	-7.80	-8.0	-6.4	-6.4	-5.8	-6.7

Los 4 compuestos poseen afinidad por blancos claves en la diabetes y probablemente tengan efecto antidiabético. Los receptores activados por el proliferador del peroxisoma (PPAR) son importantes en la superfamilia de receptores nucleares. Estos receptores son factores de transcripción activados por ligandos que tienen función clave en el catabolismo y el almacenamiento de las grasas. El PPAR- δ regula la homeostasis de los lípidos y disminuye la glucemia, por lo que los 4 compuestos con afinidad a PPAR- δ , serían agonistas del receptor, provocando la oxidación de ácidos grasos, la reducción de los triglicéridos séricos, evitar la disminución de lipoproteína lipasa de alta densidad (HDL-c), y mejorar el metabolismo de la glucosa así, como la sensibilidad a la insulina **(Evans et al., 2011; Kleiner et al., 2009; Gross & Staels, 2007)**. También mostraron afinidad hacia el PPAR- γ , pueden ser agonistas que favorezcan la expresión de lipoproteína lipasa, proteínas transportadoras de ácidos grasos (FATP), proteínas fijadoras de ácidos grasos en adipocitos, acetil CoA sintetasa, así como transportadores GLUT-1 y GLUT-4 **(Bailey, 2000)**, lo que incrementaría la lipogénesis en el tejido adiposo, reduciría los ácidos grasos en el hígado, disminuiría la gluconeogénesis y mejoraría la captación de glucosa por el adipocito y tejido muscular **(Tahrani et al., 2010)**. Sobre el PPAR- α también muestran afinidad, y podrían ser agonistas, aumentando el catabolismo de ácidos grasos en hígado, corazón y músculo esquelético **(Gross & Staels, 2007)**, y regulando la expresión de enzimas de la β -oxidación **(Berger & Moller, 2002)**, disminuyendo triglicéridos (TG) plasmáticos y aumento de la HDL-c, resultante de estimular la expresión de apolipoproteínas en las HDLs **(Gross & Staels, 2007)**.

De igual manera, tuvieron afinidad a la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4), quizá como inhibidores, lo que aumentaría la hormona intestinal, péptido similar al glucagón (GLP1), extendiendo su vida media y la mejora de la secreción de insulina de las células β y el control glucémico **(Sutton et al., 2012)**.

Así mismo, mostraron energía de afinidad a la Glucoquinasa (GCK), quizá como activadores selectivos de esta enzima, ya que su activación en el hígado promueve la síntesis de glucógeno (glucogénesis). El equilibrio entre la tasa de fosforilación de la glucosa por GCK determina el flujo neto de glucosa hacia el interior o exterior del hígado. La GCK funciona

como sensor de la glucosa en las células pancreáticas β , lo cual conlleva a regulación de la glucemia (**Bebernitz et al., 2009**).

También tuvieron energía de afinidad hacia otro blanco clave en la diabetes, la aldosa reductasa (AKR1B1), como inhibidores de esta enzima, involucrada en las complicaciones microvasculares en la diabetes tipo 2, al inhibir la enzima se reduce el metabolismo de glucosa por la vía del poliol y disminuye el estrés oxidativo (**Van Zandt et al., 2009**).

Tuvieron energía de afinidad hacia el receptor GPR40 humano (hGPR40), o receptor 1 de ácidos grasos libres (FFAR1), se localiza en las células β del páncreas y en las células enteroendocrinas y mejora la secreción de insulina dependiente de glucosa y la secreción del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) de las células intestinales (**Srivastava et al., 2014**). Por último, mostraron afinidad hacia la tirosina fosfatasa (PTP), las evidencias experimentales indican que al estar sobreexpresada, disminuye la señal de la insulina, así como también déficit en la incorporación de la glucosa en tejido muscular y adiposo, por lo que podrían ser inhibidores de las PTPs (**Tautz et al., 2013**).

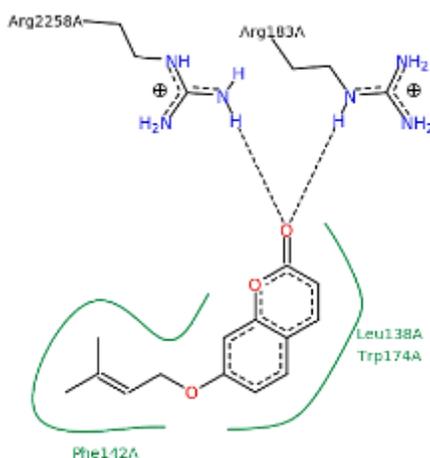


Figura 7.11.4-1. Diagrama de interacción proteína-ligando bidimensional de 7-preniloxicumarina (mayor energía de afinidad) con FFAR1.

7.12 Determinación del efecto vasorrelajante del extracto y compuestos aislados de *Tagetes lucida* en anillos de aorta aislada de rata.

Se evaluó el efecto vasorrelajante del EEtOHTI y del precipitado con base en los antecedentes sobre el efecto vasorrelajante (**Estrada Soto et al., 2021**). Los datos experimentales muestran que el EEtOHTI y el precipitado indujeron independiente del endotelio y dependiente de la concentración, sobre anillos de aorta aislada de rata.

Tabla 7.12-1. Concentraciones medias del efecto vasodilatador y porcentaje de relajación de EEtOHTI y precipitado en tejido con endotelio (e+) y en tejido sin endotelio (e-).

Evaluado	% de relajación en aorta	CE ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
EEtOHTI (e +)	100%	16.38 +/- 10.10
EEtOHTI (e -)	100%	31.59 +/- 8.89
Precipitado (e +)	100%	78.28 +/- 8.38
Precipitado (e -)	100%	66.49 +/- 5.20

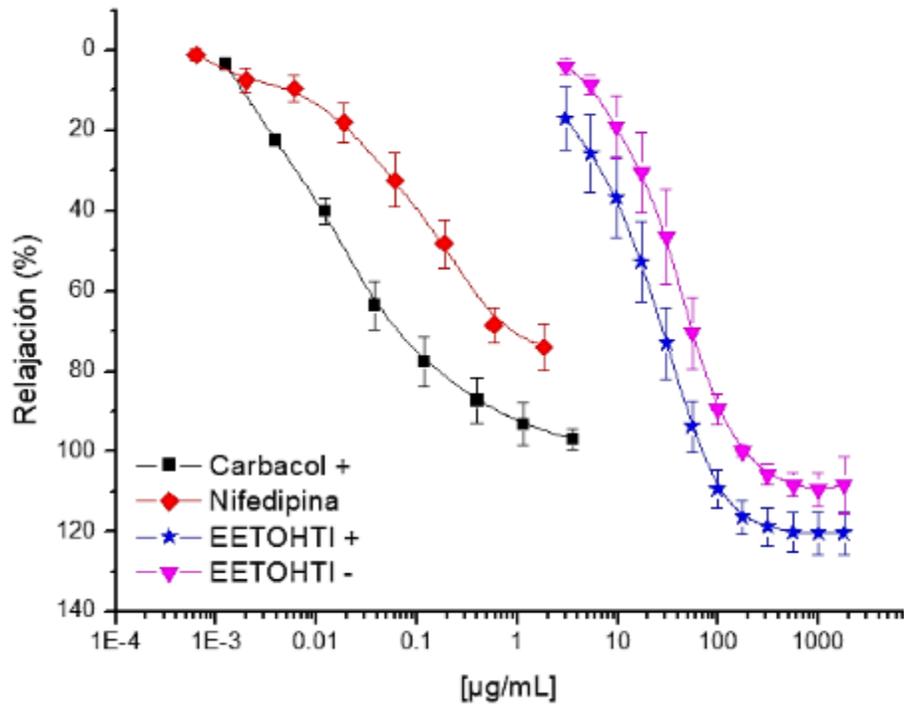


Figura 7.12-1. Efecto vasodilatador dependiente de la concentración de EEtOHTI en tejido con endotelio (e+) y sin endotelio (e-).

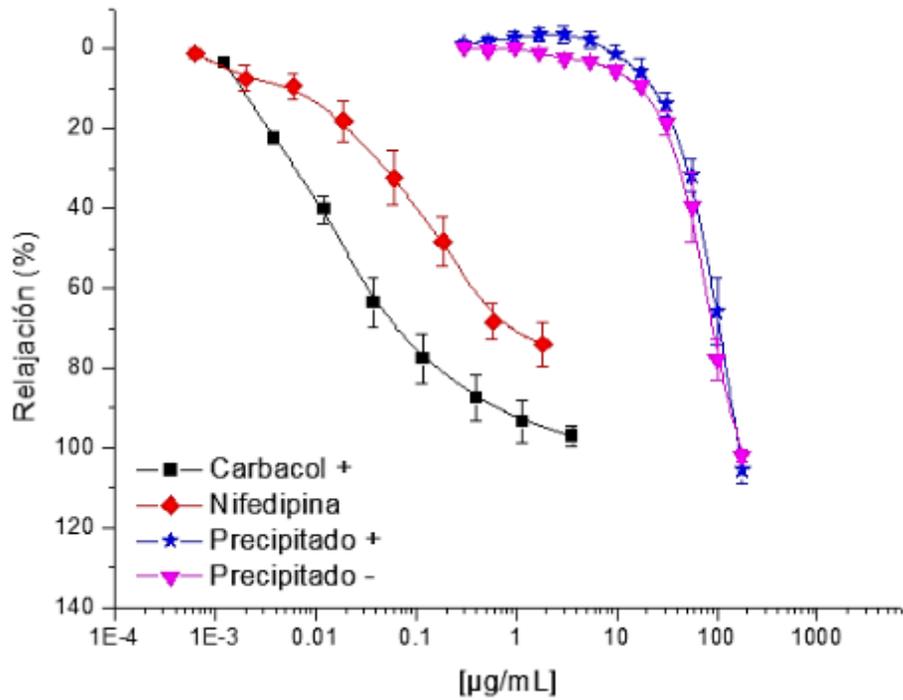


Figura 7.12-2. Efecto vasodilatador dependiente de la concentración del precipitado en tejido con endotelio (e+) y sin endotelio (e-).

El EEtOHTI mostró ser vasodilatador con eficacia del 100% y con CE₅₀ de 16.38 +/- 10.10 µg/ml, en anillos con endotelio. El efecto en los anillos sin endotelio tuvo eficacia del 100% con CE₅₀ de 31.59 +/- 8.89 µg/ml, indicando que el efecto relajante del EEtOHTI es independiente del endotelio, sin embargo, con endotelio es 2 veces más potente, lo cual sugiere que aumente la producción de óxido nítrico (ON) (endotelio), y que activará la guanilato ciclasa soluble y/o receptores acoplados a proteína G, involucrados en regular la contracción y relajación del músculo liso (figura 7.12-1).

Con respecto al precipitado, también fue vasodilatador con eficacia del 100% y con CE₅₀ de 78.28 +/- 8.38 µg/ml, en anillos con endotelio. El efecto en anillos sin endotelio tuvo eficacia del 100% con CE₅₀ de 66.49 +/- 5.20 µg/ml (figura 7.12-2), indicando que la relajación por el precipitado es independiente del endotelio, y que actuaría por los mecanismos mencionados; así mismo, los compuestos en este pueden generar gran parte del efecto vasodilatador del EEtOHTI, sin embargo, no son los que generan el efecto completo en las curvas concentración-respuesta de EEtOHTI.

Con base en antecedentes sobre la vasorrelajación por el extracto etanólico de *Tagetes lucida* (**Estrada Soto et al., 2021**), este contiene cumarinas metoxiladas de las que destacan 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 7-metoxicumarina, y se ha determinado que la vasorrelajación en el endotelio, es porque estas cumarinas inducen la producción de ON, que se libera de la célula endotelial y activa la guanilato ciclasa soluble (GCS) en el músculo liso vascular y generar cGMP, siendo este un segundo mensajero involucrado en la relajación del músculo liso vascular (**Avila-Villarreal et al., 2013; Rios et al., 2012; Sánchez-Salgado et al., 2010**).

Sin embargo, como se observa en la figura 7.12-1, el efecto vasorrelajante también puede ser por otros factores que regulan la contracción y relajación del músculo liso, ya que el EEtOHTI también genero vasorrelajación significativa en ausencia de endotelio, y es porque las cumarinas actúan en músculo liso vascular, bloqueando los canales de Ca²⁺ tipo L (**Estrada Soto et al., 2021**).

7.13 Determinación del efecto traqueorrelajante del extracto y compuestos obtenidos de *Tagetes lucida*

Se evaluó el efecto traqueorelajante del EEtOHTI y del precipitado, mediante curvas concentración-respuesta de relajación, en el modelo *ex vivo* de anillos de tráquea aislados de rata, contraídos por Carbacol [1 μ M]. Como se observa en la tabla 7.13-1, el EEtOHTI mostró eficacia del 100 % y con CE50 de 71.40 +/- 5.96 μ g/ml, mayor que el de la Teofilina (control utilizado), y el precipitado tuvo efecto del 82% +/- 3.92 con CE50 de 49.17 +/- 6.82 μ g/ml, indicando que el EEtOHTI fue más eficaz que el precipitado, esto puede deberse a otros compuestos que aporten o sumen a la actividad, sin embargo, el precipitado tuvo buena eficacia, por lo que los compuestos en él, corresponden a los que están generando en parte la traqueorelajación. Es importante mencionar que el EEtOHTI y el precipitado mostraron efecto traqueorrelajante dependiente de la concentración. De acuerdo con el trabajo contiene cumarinas metoxiladas, y estos hallazgos sugieren que las cadenas de éter cumarínico provocan la traqueorelajación, mediante la relajación de células del músculo liso de las vías aéreas por aumento de segundos mensajeros de nucleótidos cíclicos (cAMP y cGMP), la disminución del calcio intracelular (bloqueadores de los canales de calcio), la inhibición de la respuesta excitadora (anticolinérgico, antihistamínicos, antileucotrienos), o sobre la inducción de una respuesta directa relajante (agonistas β_2 - adrenérgicos).

Por lo que podría disminuir la afluencia de calcio por bloqueo de canales de calcio de la membrana, así como el bloqueo de canales de calcio intracelulares, generando relajación al disminuir la concentración de calcio intracelular (**Sánchez et al., 2014**).

Tabla 7.13-1. Concentraciones medias y eficacia máxima del efecto traqueorrelajante del EEOHTI y precipitado.

Evaluado	% de relajación en tráquea	CE ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
EEOHTI	100	71.40 +/- 5.96
Precipitado	82 +/- 3.92	49.17 +/- 6.82
Teofilina	92.7 +/- 0.94	78.28 +/- 8.38

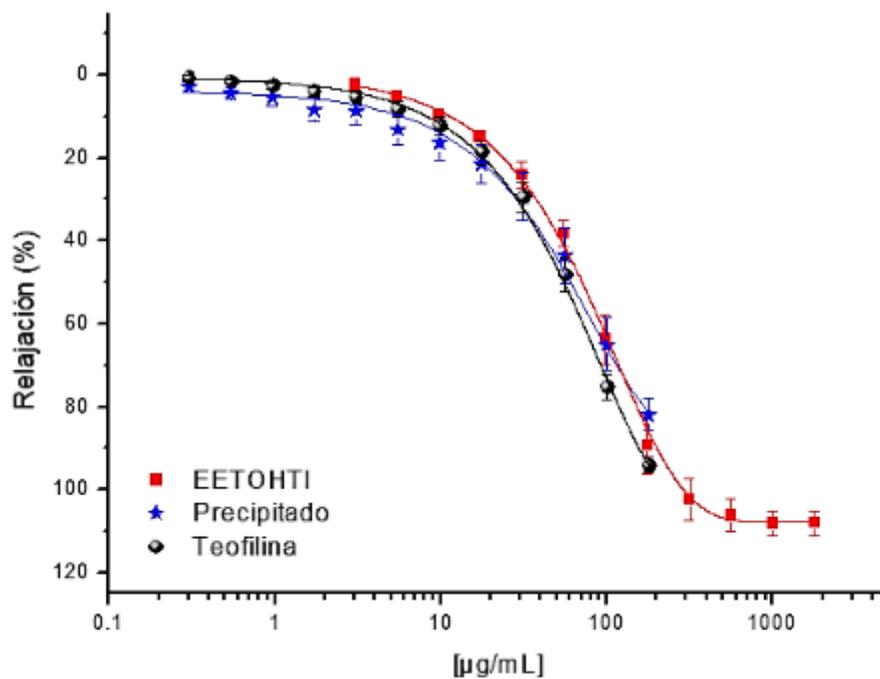


Figura 7.13-1. Efecto traqueorrelajante dependiente de la concentración del EEOHTI y precipitado vs. Teofilina en anillos de tráquea aislados de rata.

7.14 Cromatografía en columna abierta (CC)

El extracto etanólico de *Tagetes lucida* se sometió a fraccionamiento cromatográfico (elución isocrática) para conocer el perfil fitoquímico, e identificar sus metabolitos más abundantes; se usó mezcla hexano/acetato de etilo en proporción 90:10 (figura 7.14-1).



Figura 7.14-1. Fraccionamiento cromatográfico del EEtOHTI.

Posteriormente, las fracciones se fueron juntando por similitud cromatográfica, durante el proceso se obtuvieron diferentes compuestos, que se identificarán por cromatografía de gases acoplado a masas (GC/MS), y por resonancia magnética nuclear de protón y carbono.

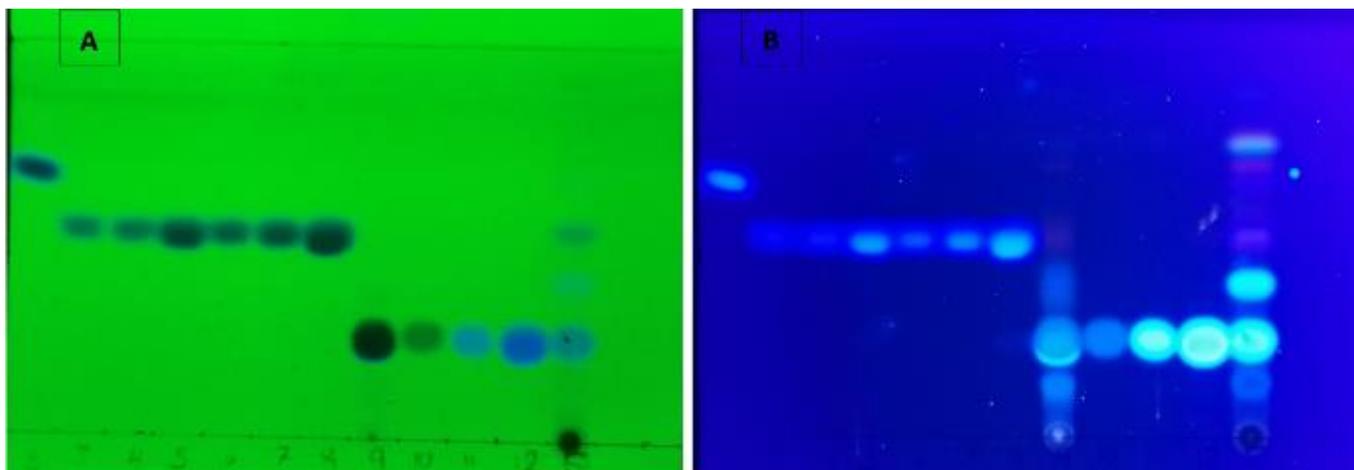


Figura 7.14-2. Identificación de similitud por cromatografía en capa fina de los diferentes compuestos obtenidos, observadas en U.V. a longitud de onda corta (A) y larga (B).



Figura 7.14-3. Compuestos obtenidos de las fracciones colectadas.

Los compuestos mayoritarios en el EEtOHTI ya descritos anteriormente se encontraron en las fracciones: 81-93 y 94-139. Sin embargo, en las fracciones 94-139 se obtuvieron dos tipos de compuesto (JM-1 y JM-3 (figura 7.14-4).

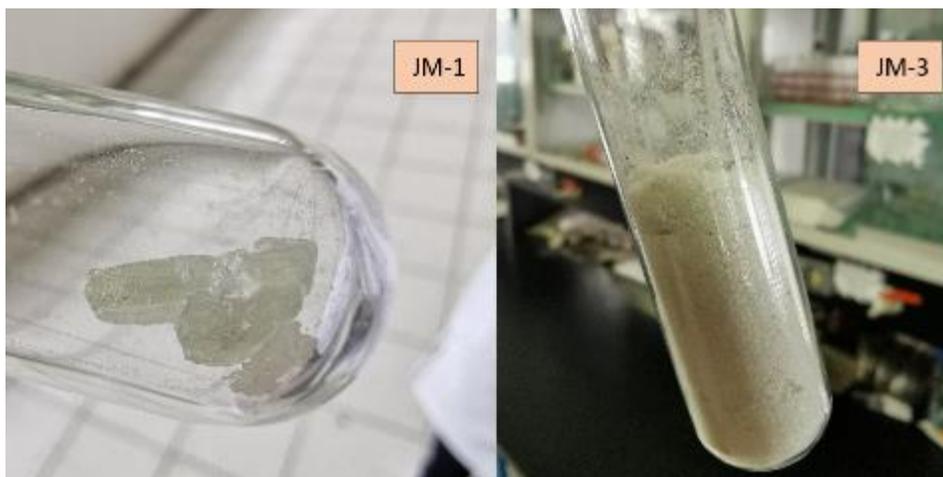


Figura 7.14-4. Compuestos obtenidos en las fracciones 94-139.

Además, a partir del compuesto JM-3 se tomó una muestra y se cristalizó con acetona, obteniendo un tercer compuesto (JM-2) (figura 7.14-5).



Figura 7.14-5. Compuesto JM-2.

Se cromatografió en capa fina (65:35, hexano-acetato de etilo) de los tres compuestos (JM-1, JM-2 y JM-3) vs. umbiliferona y 6-7 dimetoxicumarina (escoparona); en la figura 7.14-6 se observa que los tres compuestos eluyen a cercanos a la 6,7 dimetoxicumarina, lo que indica que son cumarinas muy parecidas a la escoparona. El JM-1, emite una coloración distinta en UV (en ambas longitudes de onda), y podría ser un compuesto diferente al JM-3, a pesar de ser obtenidos de las mismas fracciones en la CC.

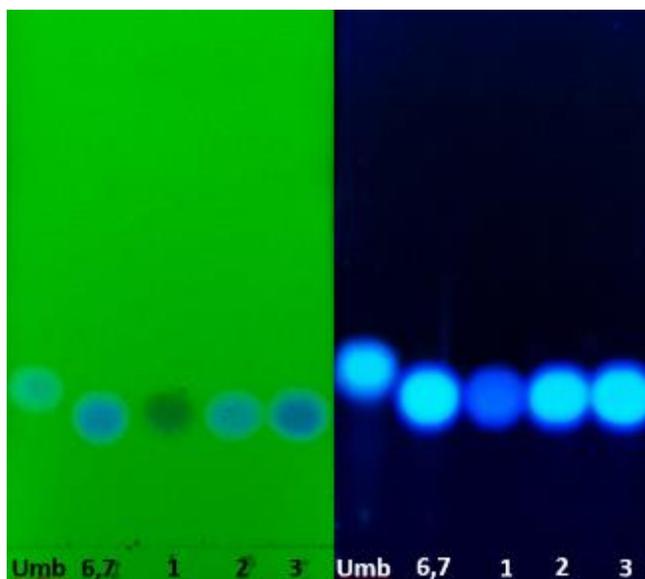


Figura 7.14-6. CCF (hexano-acetato, 65:35) de JM-1 1 (1), JM-2 (2) y JM-3 (3) vs. 6-7, dimetoxicumarina (6-7) y umbeliferona (Umb), observadas en U.V. a longitudes de onda corta y larga.

Se hizo la prueba de cloruro férrico para determinar grupos fenoles, en los compuestos JM-1, JM-2 y JM-3, con umbiliferona como control positivo y la 6,7-dimetoxicumarina como control negativo; en la figura 7.14-7 como puede se observa positivo solamente la umbiliferona, mientras que la 6-7 dimetoxicumarina, al igual que JM-1, JM-2 y JM-3, fueron negativos, ya que no hubo la reacción sobre la CCF.



Figura 7.14-7. Prueba de cloruro férrico en CCF (hexanoacetato, 65:35) de JM-1 (1), JM-2 (2) y JM-3 (3) vs. 6,7-dimetoxicumarina (6,7) y umbeliferona (Umb).

Para conocer la composición química e identificación de estos compuestos, el JM-1 se envió a cristalografía de rayos X, JM-2 y JM-3 a técnicas espectroscópicas de RMN. Estos resultados se observan en el apartado de elucidación estructural 7.15.

7.15 Elucidación Estructural

Con la finalidad de conocer la composición fitoquímica del precipitado, así como los compuestos obtenidos del EEtOHTI, se analizaron por cromatografía en columna acoplada a espectrometría de masas (GC/MS), cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear de protón y carbono, con el apoyo del Dr. Eduardo Hernández Vázquez, del Instituto de Química, Departamento de Química Orgánica, UNAM.

7.15.1 Precipitado

Los datos obtenidos de la GC/MS (figura y tabla 7.15.1-1), proporcionó información de la composición del precipitado, en donde hubo dos picos mayoritarios con tiempo de retención de 20.81 min y 24.39 min, con porcentaje de probabilidad de similitud estructural del 84% con 7-metoxicumarina y del 78.1% con la escoparona (6,7-dimetoxicumarina).

Esto datos indican que los compuestos mayoritarios en el precipitado son cumarinas metoxiladas.

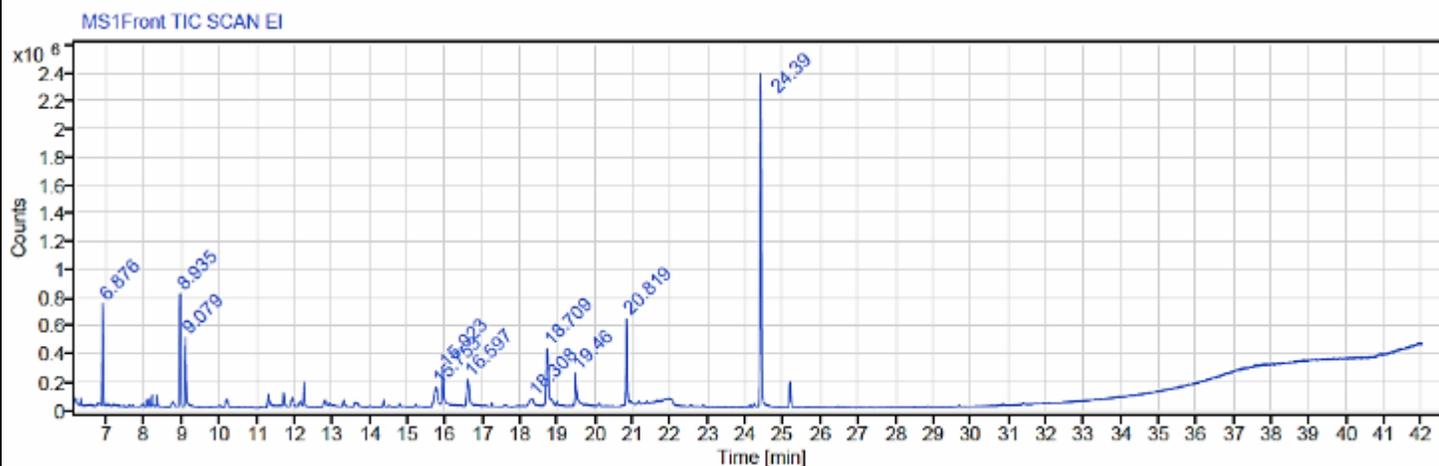


Figura 7.15.1-1. Cromatograma del precipitado.

Tabla 7.15.1-1. Cromatograma del precipitado.

Retention Time : 20.819 min					
Signal Name	Height	Area	Height %	Area %	
MS1Front TIC SCAN EI	627019	1418005	10	9	
Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #	
2H-1-Benzopyran-2-one, 7-methoxy-	886	894	84	531-59-9	
4-Methoxycoumarin	768	778	4.66	20280-81-3	
2H-1-Benzopyran-2-one, 8-methoxy-	765	770	4.11	2445-81-0	
4H-Chromen-4-one, 7-methoxy-	742	752	1.5	5751-52-0	
1H-1,2,3,4-Tetrazole, 5-(4-methoxyphenyl)-	741	784	1.44		
Retention Time : 24.39 min					
Signal Name	Height	Area	Height %	Area %	
MS1Front TIC SCAN EI	2390610	5396810	38	32	
Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #	
Scoparone	889	891	78.81	120-08-1	
5,8-Dimethoxycoumarin	817	817	10.97	57585-52-1	
7,8-Dimethoxycoumarin	802	803	6.65	2445-80-9	
4-Methoxy-6-methoxycoumarin	766	766	1.64		
2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-6-methoxy-4-methyl-	742	851	0.55	3374-03-6	

7.15.2

Compuestos JM-1, JM-2, AH-4, AH-5, AH-6, AH-7

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , fueron analizados con el programa MestReNova para obtener la predicción de las moléculas.

En los 6 compuestos obtenidos se aprecian señales entre 6.26 y 6.35 ppm, que corresponden al protón de la posición 3, y 7.62 y 7.65 asignable al protón de la posición 4 del α -pirona (figura 7.15.2-1), y con respecto a RMN ^{13}C se observan constantes las señales que corresponden a los carbonos de las posiciones 3 y 4 (tabla 7.15.2-1).

Tabla 7.15.2-1. Desplazamientos de ^1H y ^{13}C (400 MHz) que se mantienen en los 6 compuestos.

Compuesto	$\delta^1\text{H}$ Posición 3	$\delta^1\text{H}$ Posición 4	$\delta^{13}\text{C}$ Posición 3	$\delta^{13}\text{C}$ Posición 4
JM-1	6.35	7.62	103.72	143.45
JM-2	6.30	7.64	107.98	143.30
AH-4	6.26	7.65	112.52	143.54
AH-5	6.26	7.65	112.54	143.44
AH-6	6.26	7.65	112.59	143.44
AH-7	6.26	7.65	112.92	143.63

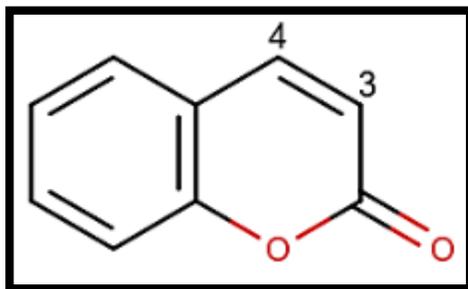


Figura 7.15.2-1. Protones de las posiciones 3 y 4 del α -pirona.

7.15.3 JM-1

De acuerdo a los resultados la molécula corresponde a la **6,7,8-trimetoxicumarina** (figura 7.15.3-1). Se observan sus señales características, como los protones de los carbonos 1' y 1'' (3H, S, $\delta^1\text{H}$, 4.04 ppm y 4.00 ppm, respectivamente), y adicionalmente el protón de la posición 8 (3H, S, $\delta^1\text{H}$, 3.91 ppm), el protón de la posición 3 (1H, d, $J=9.55$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 6.35 ppm), el protón de la posición 4 (1H, d, $J=9.54$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 7.62 ppm), así como el carbono de la posición 2 ($\delta^{13}\text{C}$, 160.5 ppm), y esto se confirmó con los rayos X (figura 7.15.3-2 y tabla 7.15.3-2).

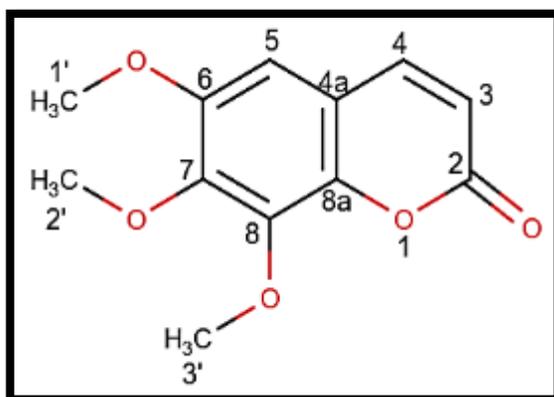


Figura 7.15.3-1. Estructura de 6,7,8-trimetoxicumarina.

Los desplazamientos químicos, así como sus constantes de acoplamiento, son muy similares a los reportados por Sánchez-Recillas et al. (2014), por lo que se puede confirmar que el compuesto **JM-1**, es **6,7,8- trimetoxicumarina**.

Tabla 7.15.3-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto 6,7,8-trimetoxicumarina.

Posición	δ , multiplicidad, H, J	δ
	^1H	^{13}C
1	----	----
2	----	160.5
3	6.36, d, 1H, 9.55 Hz	103.72
4	7.62, d, 1H, 9.54 Hz	143.45
4a	----	61.83
5	6.68, s, 1H	61.52
6	----	150.13
7	----	143.5
8	----	115.21
8a	----	114.34
1'	3.91, s, 1H	56.32
2'	4.00, s, 1H	56.32
3'	4.04, s, 1H	56.32

Reference:	S.Nurdin, M.R.Mukhtar, K.Awang, A.H.A.Hadi, S.W.Ng (2007) <i>Acta Crystallogr., Sect.E: Struct. Rep. Online</i> ,63,o3692					
Formula:	C ₁₂ H ₁₂ O ₅					
Compound Name:	6,7,8-Trimethoxycoumarin					
Space Group:	Pbca	Cell:	a 13.969(0)	b 8.116(0)	c 19.790(1)	
Space Group No.:	61	(Å,°)	α 90.00	β 90.00	γ 90.00	
R-Factor (%):	4.06	Temperature(K):	295	Density(g/cm³):	1.399	

Tabla 7.15.3-2. Datos cristalográficos del 6,7,8-trimetoxicumarina.

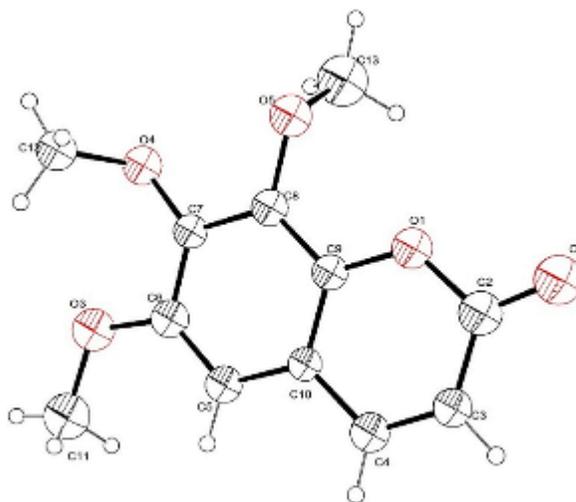
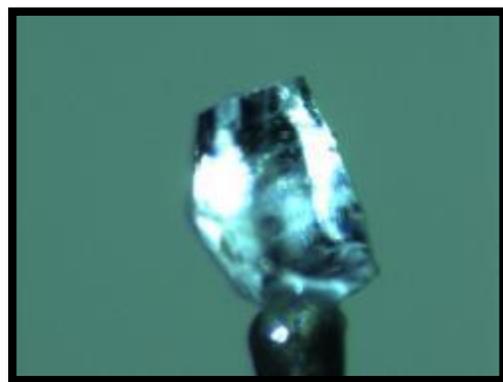


Figura 7.15.3-3. Estructura molecular del compuesto 6,7,8-trimetoxicumarina obtenida por difracción de rayos X.

7.15.4 JM-2

De acuerdo a los resultados la molécula corresponde a la **6,7-dimetoxicumarina**. Los datos de los desplazamientos químicos se muestran en la tabla 7.15.4-1. Se observan señales características de esta molécula, como las de los protones 1' y 1'' (3H, s, $\delta^1\text{H}$, 3.97 ppm y 3.94 ppm, respectivamente), el protón de la posición 3 (1H, d, $J=9.47$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 6.30 ppm), el protón de la posición 4 (1H, d, $J=9.42$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 7.64 ppm), así como la de los carbonos, en la posición 2 ($\delta^{13}\text{C}$, 161.4 ppm) y los de la posición 3 y 4 ($\delta^{13}\text{C}$, 108.1 ppm y $\delta^{13}\text{C}$, 143.4 ppm, respectivamente). Además, en el espectro de ^{13}C , se observan 10 señales que corresponden a los 10 átomos de carbono que se observan de la molécula, y esto se confirmó con los espectros de ^{13}C -DEPT-90 y ^{13}C -DEPT-135, con los carbonos de las posiciones 3, 4, 5 y 8 ($\delta^{13}\text{C}$, 107.98, 143.30, 113.56 y 100.1 ppm, respectivamente), que corresponden a señales de carbonos terciarios en ^{13}C -DEPT90 y en ^{13}C -DEPT135; se observan los mismos carbonos que en ^{13}C -DEPT90, y una señal adicional de los carbonos primarios de las posiciones 1' y 1'' ($\delta^{13}\text{C}$, 56.38 ppm). Los desplazamientos químicos, así como sus constantes de acoplamiento, son muy similares a los reportados por Sánchez-Recillas et al. (2014), por lo que se puede confirmar que el compuesto **JM-2**, es **6,7-dimetoxicumarina**.

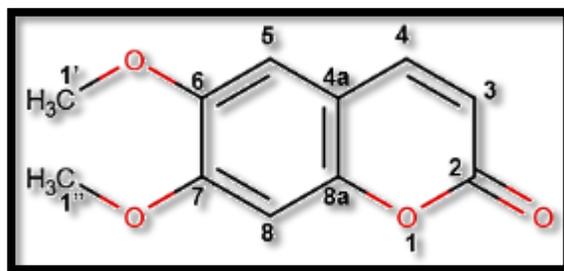


Figura 7.15.4-1. Estructura de 6,7-dimetoxicumarina.

Tabla 7.15.4-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C de 6,7-dimetoxicumarina.

Posición	δ , multiplicidad, H, J	δ
	^1H	^{13}C
1	----	----
2	----	161.40
3	6.30, d, 1H, 9.47Hz	107.98
4	7.64, d, 1H, 9.42 Hz	143.30
4a	----	111.45
5	6.86, s, 1H	113.56
6	----	146.35
7	----	150.04
8	6.87, s, 1H	100.1
8a	----	152.85
1'	3.97, s, 1H	56.23
1''	3.94, s, 1H	56.23

7.15.5 AH-4

De acuerdo a los resultados la molécula corresponde a la **7-preniloxicumarina** (figura 7.15.5-1). Se observan sus señales características, como los protones de los carbonos 1' y 1'' (3H, S, $\delta^1\text{H}$, 1.83 ppm y 1.79 ppm, respectivamente), y adicionalmente el protón de la posición 11 (1H, multiplete, $\delta^1\text{H}$, 5.49 ppm), los protones de la posición 10 (2H, d, $\delta^1\text{H}$, 4.60 ppm), el protón de la posición 3 (1H, d, $J=9.55$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 6.26 ppm), el protón de la posición 4 (1H, d, $J=9.53$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 7.65 ppm), así como el carbono de la posición 11a ($\delta^{13}\text{C}$, 139.38 ppm).

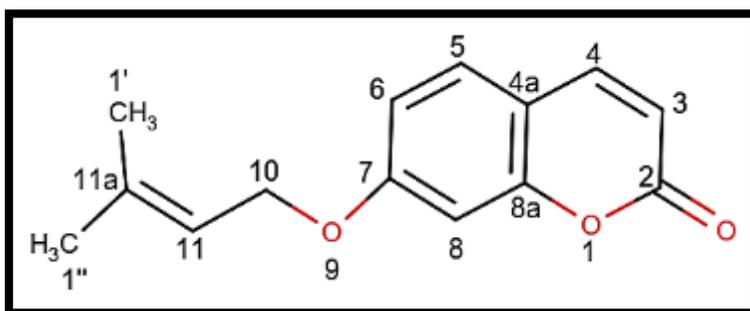


Figura 7.15.5-1. Estructura de 7-preniloxicumarina.

Tabla 7.15.5-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C de 7-preniloxicumarina.

Posición	δ , multiplicidad, H, J	δ
	^1H	^{13}C
1	----	----
2	----	161.38
3	6.26, d, 1H, 9.55Hz	112.52
4	7.65, d, 1H, 9.56Hz	143.54
4a	----	113.31
5	7.38, d, 1H,8.64Hz	128.79
6	6.85, dd,1H, 8.77, 2.40Hz	113.06
7	----	163.23
8	6.88, d, 1H, 2.41Hz	101.65
8a	----	155.98
9	----	----
10	4.60, d, 2H, 6.86Hz	65.52
11	5.49, multiplete,1H	118.73
11a	----	139.38
1'	1.79, s, 1H	18.37
1''	1.83,s, 1H	25.90

7.15.6 AH-5, AH-6, AH-7

Los resultados de los espectros de AH-5, 6 y 7, corresponden a la **7-metoxicumarina** (figura 7.15.6-1). Se observan sus señales características, como la de los protones del carbono CH_3 (3H, S, $\delta^1\text{H}$, 3.89 ppm), el protón de la posición 3 (1H, d, $J=9.54$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 6.26 ppm), el protón de la posición 4 (1H, d, $J=9.48$ Hz, $\delta^1\text{H}$, 7.65 ppm), así como la de los carbonos en la posición 2 ($\delta^{13}\text{C}$, 161.21 ppm), y los de la posición 3 y 4 ($\delta^{13}\text{C}$, 112.54 ppm y $\delta^{13}\text{C}$, 143.44 ppm, respectivamente). También se observan los acoplamiento orto entre los protones 5-6 ($J=7.5$ - 8.3 Hz), orto de los protones 6-5 ($J=7.5$ - 8.3 Hz) / meta 6-8 ($J=1.5$ - 2.5Hz) y meta de los protones 8-6($J=1.5$ - 2.5Hz) (figura 7.15.6-2). Además, en el espectro de ^{13}C se observan 10 señales que corresponden a los 10 átomos de carbono de la molécula y esto se confirmó con los rayos X (figura 7.15.6-4). Los desplazamientos químicos, así como sus constantes de acoplamiento, son muy similares a los reportados por Sánchez-Recillas et al. (2014), por lo que se confirma que los compuestos, **AH-5, 6 y 7** corresponden a **7-metoxicumarina**.

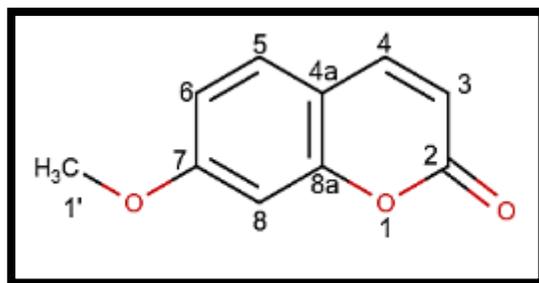


Figura 7.15.6-1. Estructura de 7-metoxicumarina.

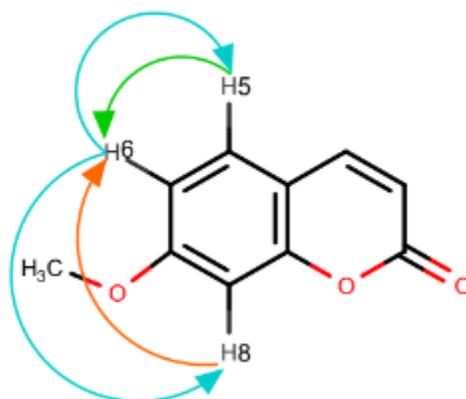


Figura 7.15.6-2. Sistema spin de 3 protones de 7-metoxicumarina.

Tabla 7.15.6-1. Desplazamientos químicos (400 MHz) obtenidos de la RMN de ^1H y ^{13}C de 7-metoxicumarina.

Posición	AH-5		AH-6		AH-7	
	δ , multiplete, H, J ^1H	δ ^{13}C	δ , multiplete, H, J ^1H	δ ^{13}C	δ , multiplete, H, J ^1H	δ ^{13}C
1	----	----	----	----	----	----
2	----	161.21	----	161.21	----	161.53
3	6.26, d, 1H, 9.54Hz	112.54	6.26, d, 1H, 9.55Hz	112.59	6.26, d, 1H, 9.55Hz	112.92
4	7.65, d, 1H, 9.48Hz	143.44	7.65, d, 1H, 9.48Hz	143.44	7.65, d, 1H, 9.48Hz	143.63
4a	----	112.57	----	112.59	----	113.36
5	7.39, d, 1H, 8.58Hz	128.78	7.38, d, 1H, 8.57Hz	128.77	7.38, d, 1H, 8.57Hz	129.16
6	6.84, dd, 1H, 9.22, 2.44Hz	113.10	6.83, dd, 1H, 9.23, 2.45Hz	113.10	6.83, dd, 1H, 9.23, 2.45Hz	113.50
7	----	162.85	----	162.85	----	162.85
8	6.87, d, 1H, 2.44Hz	100.85	6.87, d, 1H, 2.44Hz	100.86	6.87, d, 1H, 2.44Hz	101.17
8a	----	155.92	----	155.93	----	156.25
1'	3.89, s, 3H	55.79	3.88, s, 3H	55.78	3.88, s, 3H	55.99

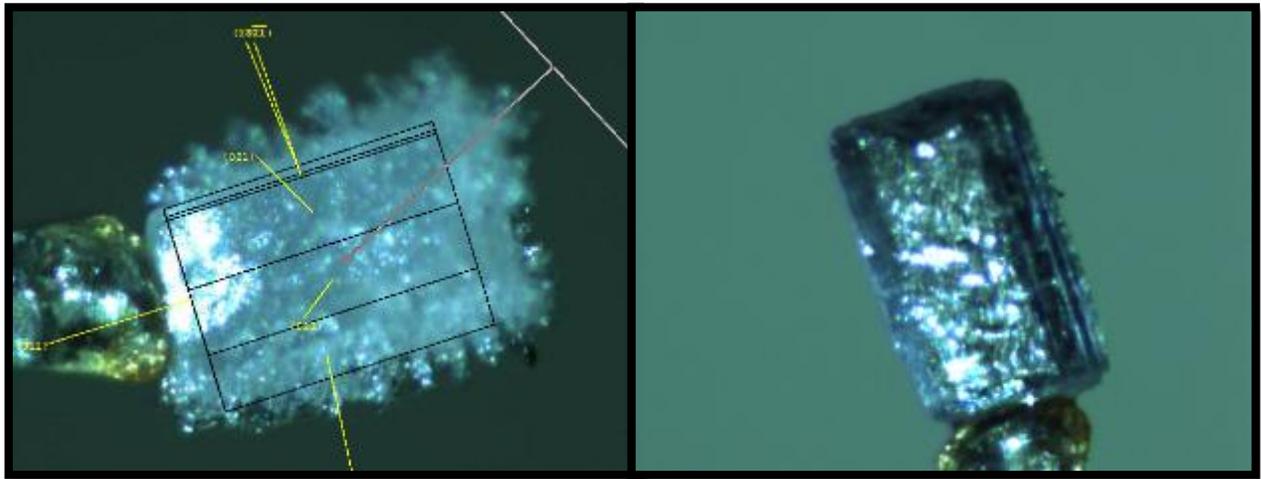


Figura 7.15.6-3. Cristalografía de rayos X de metoxicumarina.

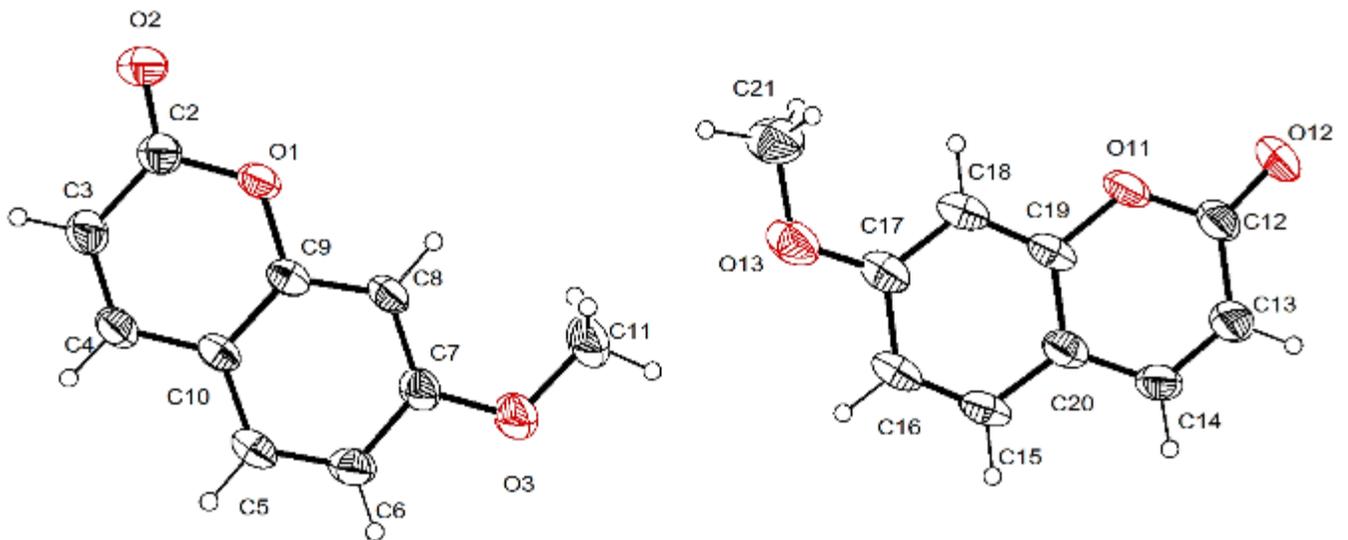


Figura 7.15.6-4. Estructura obtenida por difracción de rayos X de 7-metoxicumarina.

7.16 Propiedades fisicoquímicas de 7-metoxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 7-preniloxicumarina.

Algunas de las propiedades fisicoquímicas de 7-metoxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 7-preniloxicumarina se muestran en la tabla 7.11-1.

Tabla 7.16-1. Propiedades fisicoquímicas de 7-metoxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 7-preniloxicumarina. Fuente: (ChemAxon, 2020; Molinspiration Cheminformatics, 2023).

Nombre de la propiedad	7-metoxicumarina	6,7-dimetoxicumarina	6,7,8-trimetoxicumarina	7-preniloxicumarina
Log P	2.05	1.90	1.82	3.4
Peso Molecular	176.17 g/mol	206,19 g/mol	236.22 g/mol	230.26 g/mol
Fórmula Molecular	C ₁₀ H ₈ O ₃	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	C ₁₄ H ₁₄ O ₃
Numero de átomos	13	15	17	17
Aceptores de enlace de hidrogeno	3	4	5	3
Donadores de enlaces de hidrogeno	0	0	0	0
Estado físico	Sólido	Sólido	Sólido	Sólido
Número de enlaces rotables	1	2	3	3
Área superficial topológica	35.5 Å	44.8 Å	54.0 Å	35.5 Å
Punto de fusión (Teórico)	117.0-118.0 °C	144°C	103.0- 104.0°C	77-78 °C
Punto de fusión (Experimental)	110.0 -112.0 °C	142.0- 143.0 °C	99.0- 100.0°C	62-63 °C

7.17 Evaluación del efecto traqueorrelajante de los compuestos obtenidos de *Tagetes lucida* a la dosis efectiva media.

Se evaluó los diferentes compuestos aislados, a la concentración efectiva media (CE₅₀) del EEtOHTI en anillos aislados de tráquea.

Como pueden observar los compuestos 7-preniloxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina y 7-metoxicumarina, provocaron relajación del 100% en comparación con 6,7,8-trimetoxicumarina, cuya relajación fue 70%.

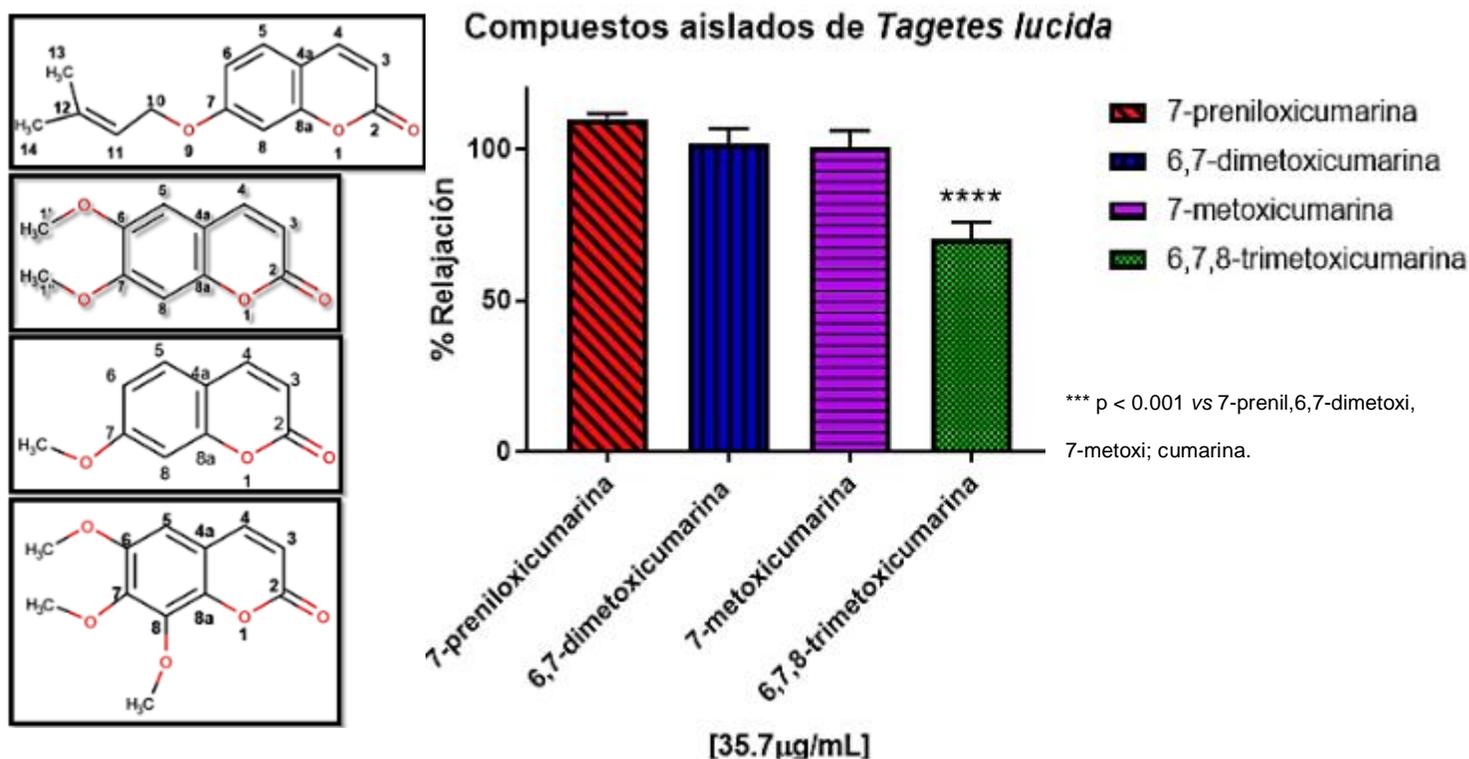


Figura 7.17-1. Porcentaje de relajación a la CE₅₀ de los compuestos sobre anillos aislados de tráquea.

Investigaciones en relaciones estructura-actividad sugieren que el aumento en las cadenas lipófilas de las posiciones 6 y / o 7 de la estructura general de la cumarina, aumenta el efecto relajante traqueal de las ratas, mientras que la disminución en la lipofilia sobre estas posiciones, el efecto también se reduce. Por lo que los compuestos 7-preniloxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina y 7-metoxicumarina, al poseer grupos éter en la posición 6 o 7 o en ambas, producen relajación, sin embargo, 6,7,8-trimetoxicumarina, al estar sustituido en la posición 8, disminuyó el efecto relajante quizá por disminución en la afinidad con el blanco terapéutico (Sánchez-Recillas et al., 2014).

7.18 Determinación del efecto vasorrelajante de 7-preniloxicumarina

Se evaluó el efecto vasorrelajante de 7-preniloxicumarina. Los datos experimentales muestran que 7-preniloxicumarina indujo vasorrelajación independiente de endotelio y dependiente de la concentración sobre anillos de aorta aislada de rata.

Tabla 7.18-1. Concentraciones medias del efecto vasodilatador y porcentaje de relajación de 7-preniloxicumarina en tejido con endotelio (e+) y en tejido sin endotelio (e-).

Evaluado	% de relajación en aorta	CE ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
7-preniloxicumarina (e +)	96.78%	232.97 +/- 7.53
7-preniloxicumarina (e -)	92.1%	253.49 +/- 3.69

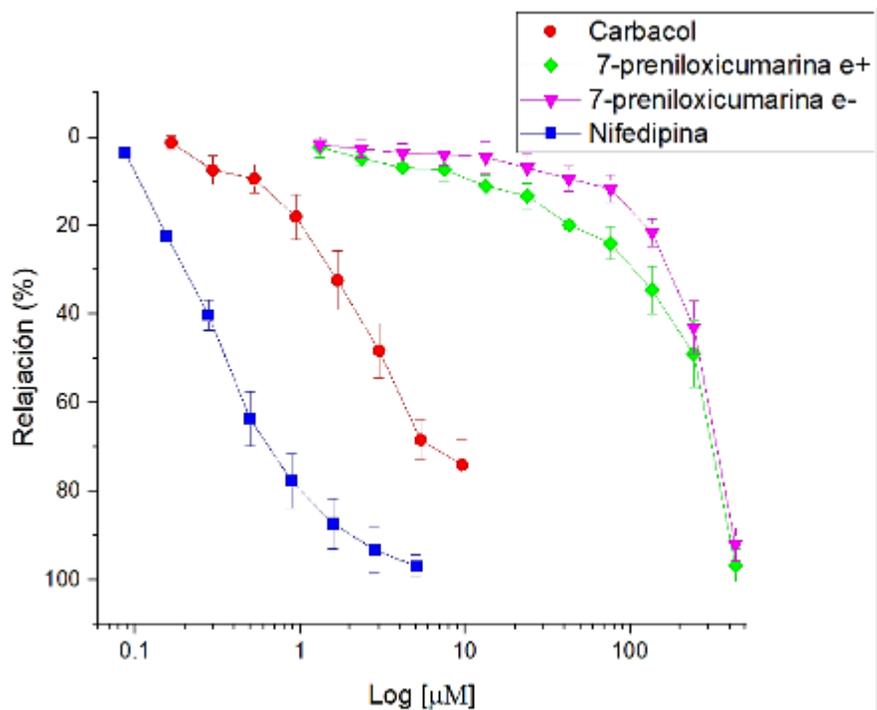


Figura 7.18-1. Efecto vasorrelajante dependiente de la concentración de 7-preniloxicumarina en anillos de aorta aislada de rata, con (e+) y sin endotelio (e-).

Como se muestra en la figura 7.18-1, 7-preniloxicumarina es vasodilatador con eficacia del 96.78% y con CE_{50} de $232.97 \pm 7.53 \mu\text{g/ml}$, en anillos con endotelio. El efecto en los anillos sin endotelio 92.1% de eficacia, con CE_{50} de $253.49 \pm 3.69 \mu\text{g/ml}$, indica que el efecto relajante de 7-preniloxicumarina es independiente del endotelio. Tal efecto puede ser por la producción de óxido nítrico (endotelio) y/o receptores acoplados a proteína G, involucrados en regular la contracción y relajación del músculo liso y/o bloqueo de canales de calcio.

7.19 Determinación del efecto traqueorrelajante de 7-preniloxicumarina

Se evaluó el efecto traqueorrelajante de 7-preniloxicumarina, con curvas concentración-respuesta de relajación, en el modelo *ex vivo* de anillos de tráquea aislados de rata, contraídos por Carbacol [1 μ M]. Como se observa en la tabla 7.19-1, 7-preniloxicumarina tuvo 100 % eficacia y con CE_{50} de 94.07 +/- 1.79 μ g/ml, mayor que el de la Teofilina (control utilizado). Es importante mencionar que 7-preniloxicumarina generó traqueorrelajación dependiente de la concentración.

Tabla 7.19-1. Concentraciones medias y eficacia máxima del efecto traqueorrelajante de 7-preniloxicumarina.

Evaluado	% de relajación en tráquea	CE_{50} (μ g/ml)
7-preniloxicumarina	100	94.07 +/- 1.79
Teofilina	69.04	324.64 +/- 3.05

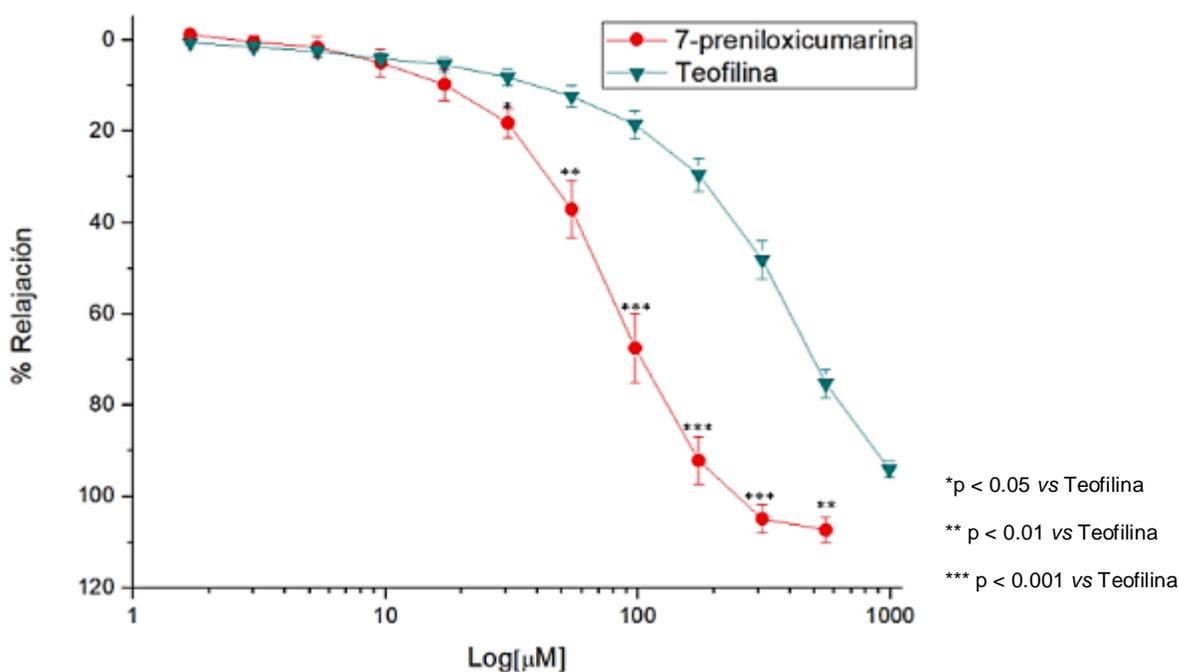


Figura 7.19-1. Efecto traqueorrelajante dependiente de la concentración de 7-preniloxicumarina vs. Teofilina en anillos de tráquea aislados de rata.

Investigaciones en relaciones estructura-actividad, sugieren que el aumento en las cadenas lipófilas de las posiciones 6 y / o 7 de la estructura general de la cumarina, aumenta la relajación traqueal de las ratas, mientras que la disminución en la lipofilia sobre estas posiciones, el efecto se reduce. Por lo que el efecto por la 7-preniloxicumarina, al poseer una sustitución de un grupo prenilo con un grupo éter en la posición 7, le confiere el efecto traqueorrelajante.

Se sugiere que la actividad mostrada (figura 7.19-1), es por la disminución de la afluencia de calcio al bloquear los canales de calcio de la membrana, así como el bloqueo de los canales de calcio intracelulares, provocando relajación por disminución del calcio intracelular **(Sánchez et al., 2014)**.

7.20 Evaluación Toxicológica

La toxicidad aguda se define como: ‘los cambios adversos que ocurren de inmediato o en periodo corto de tiempo tras la administración y corta exposición de una o múltiples dosis en un periodo no mayor a 24 horas de una sustancia química’. Así, un efecto adverso resulta por disfunción y/o alteración bioquímica que afecta la homeostasis del organismo y que podría ser letal por la entidad química.

Para evaluar el efecto toxicológico tras administrar una sola dosis del EEtOHTI, se determinó la toxicidad aguda, acorde con el apartado 423 de la OCDE; este informa el rango de DL₅₀ de la muestra de prueba, y permite clasificar a la muestra de prueba de acuerdo al sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA) (Schlede et al. 2005). El SGA tiene entre sus propósitos mejorar la protección de la salud humana y del medio ambiente, al facilitar un sistema homogéneo con una base común y coherente de clasificación, para comunicar los peligros de una sustancia. Así, la clasificación se refiere a los peligros derivados de las propiedades intrínsecas de sustancias y mezclas, ya sean naturales o sintéticas (SGA, 2011).

De acuerdo a la SGA, las sustancias se clasifican en cinco categorías de toxicidad, basadas en la toxicidad aguda por ingestión, absorción cutánea o inhalación. Los valores de toxicidad aguda se expresan en valores aproximados de DL₅₀ o CL₅₀ o en estimaciones de la toxicidad aguda (ETA).

Tabla 7.20-1. Categorías de peligro de toxicidad aguda por ingestión y elementos que deben figurar en la etiqueta (modificado de SGA, 2011).

Ingestión (mg/kg)	Categoría 1	Categoría 2	Categoría 3	Categoría 4	Categoría 5
Rango de valores experimentales de toxicidad aguda	0 ≤ 5	5 ≤ 50	50 ≤ 300	300 ≤ 2000	2000 ≤ 5000
Estimación puntual obtenida de toxicidad aguda	0.5	5	100	500	2500
Símbolo					Sin símbolo
Palabra de advertencia	Peligro	Peligro	Peligro	Atención	Atención
Indicación de peligro	Mortal en caso de ingestión	Mortal en caso de ingestión	Toxico en caso de ingestión	Nocivo en caso de ingestión	Puede ser nocivo en caso de ingestión

En la tabla 7.20-2 se presentan los resultados tras la administración de las diferentes dosis evaluadas del EEtOHTI, en cada grupo formado por 3 ratones hembra de la cepa Balb/c, observando 4 horas, 24 horas y 14 días, posteriores a la administración.

Tabla. 7.20-2. Resultados del ensayo toxicológico agudo del EEtOHTI a cada dosis.

<i>Dosis (mg/Kg)</i>	Grupos (# animales)	Diferencia de peso	Mortalidad	Observaciones
5	3	No	0/3	No se observó ningún cambio conductual, ni físico.
50	3	No	0/3	No se observó ningún cambio conductual, ni físico.
300	3	No	0/3	No se observó ningún cambio conductual, ni físico.
1120	3	No	0/3	Disminución de la actividad a los 5 minutos y sedación a los 10 minutos. A las 2 horas post administración regresaron a su comportamiento normal.
2000	3	N/A	3/3	Disminución de la actividad a los 5 minutos y sedación a los 10 minutos. A las 2 horas post administración no regresaron a su comportamiento normal y hubo decesos a las 4 horas post administración.

Así, el EEtOHTI se clasifica en la categoría 4, correspondiente a sustancia nocivas, dado que con la dosis más alta evaluada (2,000 mg/kg) hubo mortalidad, también se observan los resultados sobre cambios físicos o conductuales durante el ensayo toxicológico.

7.21 CONCLUSIÓN

Es evidente que las cumarinas simples son una magnífica alternativa en el descubrimiento de nuevas moléculas con actividad biológica, partiendo de que las especies vegetales ofrecen una diversidad estructural con mecanismos de acción novedosos, y no se descarta que puedan ser de mucho interés farmacéutico.

Derivado de los experimentos de la evaluación traqueorrelajante, vasorrelajante y antihiperglucémico, el extracto etanólico, así como las cumarinas asiladas de *Tagetes lucida* (7-preniloxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina y 7-metoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina), producen antihiperglucemia, traqueorrelajación y vasorrelajación.

La 7-preniloxicumarina es 100% traqueorrelajante con $CE_{50} 94.07 \pm 1.79 \mu\text{g/ml}$, y no hay antecedentes científicos de esta actividad farmacológica atribuida a esta cumarina.

7.22 BIBLIOGRAFÍA:

- American Diabetes Association. Diabetes Association's Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes Care* 2018;42(Suppl. 1): S1–S194. Tomado de: <https://clinical.diabetesjournals.org/content/37/1/11>.
- American Diabetes Association. 2. Clasificación y diagnóstico de la diabetes: Estándares de atención médica en diabetes - 2019. *Diabetes Care* 2019; 42 (Supl. 1): S13 – S28
- Ampudia-Blasco, F. J. (2008). Terapias basadas en el efecto incretina para el tratamiento de la diabetes tipo 2: revisión sistemática. *Av Diabetol*, 24(3), 193-203.
- Amri, E. Z., Bonino, F., Ailhaud, G., Abumrad, N. A., & Grimaldi, P. A. (1995). Cloning of a Protein That Mediates Transcriptional Effects of Fatty Acids in Preadipocytes Homology to Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 270(5), 2367-2371.
- Auboeuf, D., Rieusset, J., Fajas, L., Vallier, P., Frering, V., Riou, J. P., ... & Vidal, H. (1997). Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor- α in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes*, 46(8), 1319-1327.
- Avila-Villarreal, G., Hernández-Abreu, O., Hidalgo-Figueroa, S., Navarrete-Vázquez, G., Escalante-Erosa, F., Peña-Rodríguez, L.M., Villalobos-Molina, R., Estrada-Soto, S., 2013. Antihypertensive and vasorelaxant effects of dihydrospinochalcone-A isolated from *Lonchocarpus xuul* Lundell by NO production: computational and *ex vivo* approaches. *Phytomedicine* 20, 1241–1246.
- Bailey, C. J. (2000). Potential new treatments for type 2 diabetes. *Trends in pharmacological sciences*, 21(7), 259-265.
- Bebernitz, G. R., Beaulieu, V., Dale, B. A., Deacon, R., Duttaroy, A., Gao, J., ... & Kirman, L. C. (2009). Investigation of functionally liver selective glucokinase activators for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of medicinal chemistry*, 52(19), 6142-6152.
- Berger, J., & Moller, D. E. (2002). The mechanisms of action of PPARs. *Annual review of medicine*, 53(1), 409-435.
- Bermúdez, V., Bermúdez, F., Arraiz, N., Leal, E., Linares, S., Mengual, E., ... & Carrillo, M. (2007). Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución. *Archivos venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26(2), 76-86.
- Bernard, P., & Katrien, B. (2014). Inhibidores de la proteína 2 del transportador de glucosa de sodio: centrados en el riñón para tratar la diabetes tipo 2. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 124–136.

- Bhagani, S., Kapil, V., D. Lobo, M. (2018). Hypertension. *ELSEVIER*, 46 (9), 509-515.
- Bicchi, C., Fresia, M., Rubiolo, P., Monti, D., Franz, C., & Goehler, I. (1997). Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 12(1), 47-52.
- Bishop-Bailey, D. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system. *British journal of pharmacology*, 129(5), 823-834.
- Bogdał, D. (1998). Coumarins: fast synthesis by Knoevenagel condensation under microwave irradiation. *Journal of Chemical Research, Synopses*, (8), 468-469.
- Bouaboula, M., Hilairat, S., Marchand, J., Fajas, L., Le Fur, G., & Casellas, P. (2005). Anandamide induced PPAR γ transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *European journal of pharmacology*, 517(3), 174-181.
- Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S., & Matern, U. (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5, 293-308.
- Braissant, O. L. I. V. I. E. R., Foufelle, F., Scotto, C. H. R. I. S. T. I. A. N., Dauça, M. I. C. H. E. L., & Wahli, W. A. L. T. E. R. (1996). Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, beta, and gamma in the adult rat. *Endocrinology*, 137(1), 354-366.
- Bravo, J. M. (2014). Aportaciones de los SGLT-2 y nuevos fármacos en investigación. *SEMERGEN-Medicina de Familia*, 40, 34-40.
- Bray, G. A., & Tartaglia, L. A. (2000). Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature*, 404(6778), 672-677.
- Brunton, L. L. G. (2012). Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica 12^a ed. Capítulo 43 editorial McGrawHill, ISBN: 978-607-15-0641-2.
- Brunton, L. L., & Chabner B.A., & Knollmann B.C. (Eds.), (2019). Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica 13^a ed. McGrawHill.
- Cano, E., Meoño, E., Mendoza, L., Pérez, A., & Gallardo, I. (2012). Prevención, Diagnóstico y Tratamiento del Sobrepeso y la Obesidad Exógena. *Guía de práctica clínica GPC*, 40-45.
- Castrejón, V., Carbó, R., & Martínez, M. (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa. *Revista de Educación Bioquímica*, 26(2), 49-57.
- CHÁVEZ SILVA, F. (2019). ESTUDIO FARMACOLÓGICO, TOXICOLÓGICO Y QUÍMICO PRELIMINAR DE *Achillea millefolium* y *Plantago australis* COMO POTENCIALES AGENTES ANTIDIABÉTICOS (Doctorado). UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MORELOS.

ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology. Chemaxon.com. (2020). Disponible en: <https://chemaxon.com/>. Consultado en: abril, 2020.

Chen, J. D., & Evans, R. M. (1995). A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. *Nature*, 377(6548), 454-457.

Córdova-Villalobos, J. Á., Barriguete-Meléndez, J.A., Lara-Esqueda, A., Barquera, S., Rosas-Peralta, M., Hernández-Ávila, M., de León-May, M, E., Aguilar-Salinas, C.A., 2008. Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública Mex.* 50. 419-427.

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Tagetes lucida*., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:51696>

Desvergne, B., & Wahli, W. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocrine reviews*, 20(5), 649-688.

Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 2014. 37th ed. *Diabetes Care*, pp.S82-S84.

DÍAZ HERNÁNDEZ, D. P., & BURGOS HERRERA, L. C. (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? *Iatreia*, 179-189.

Dreyer, C., Krey, G., Keller, H., Givel, F., Helftenbein, G., & Wahli, W. (1992). Control of the peroxisomal β -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell*, 68(5), 879-887.

Duke, A. J., Bogenschutz-Godwin, M. J., & Ottesen, A. R. (2009). *Duke's Handbook of Medicinal Herbs of Latin America*.

E. Bragulat, M.T. Antonio. (2001). Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial: fármacos antihipertensivos. Unidad de Hipertensión Arterial. Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Vol. 37, 5.

Espinosa-Brito A. (2018). Hipertensión arterial: cifras para definirla al comenzar 2018. *Revista Finlay [revista en Internet]*. 2018 [citado 2019 Jun 26]; 8(1): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/594>.

Estrada-Soto, S., González-Trujano, M. E., Rendón-Vallejo, P., Arias-Durán, L., Ávila-Villarreal, G., & Villalobos-Molina, R. (2021). Antihypertensive and vasorelaxant mode of action of the ethanol-soluble extract from *Tagetes lucida* Cav. aerial parts and its main bioactive metabolites. *Journal of Ethnopharmacology*, 266, 113399.

Evans, K. A., Shearer, B. G., Wisnoski, D. D., Shi, D., Sparks, S. M., Sternbach, D. D., ... & Epperly, A. H. (2011). Phenoxyacetic acids as PPAR δ partial agonists: synthesis,

- optimization, and *in vivo* efficacy. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(8), 2345-2350.
- Evans, K. A., Shearer, B. G., Wisnoski, D. D., Shi, D., Sparks, S. M., Sternbach, D. D., ... & Epperly, A. H. (2011). Phenoxyacetic acids as PPAR δ partial agonists: synthesis, optimization, and *in vivo* efficacy. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(8), 2345-2350.
- Fajas, L., Debril, M. B., & Auwerx, J. (2001). Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: from adipogenesis to carcinogenesis. *Journal of Molecular Endocrinology*, 27(1), 1-9.
- Federación Mexicana de Diabetes, A.C. Disponible en: <http://fmdiabetes.org/>. Consultado en: septiembre, 2019.
- Federación Mexicana de Diabetes. (2018). Principales causas de mortalidad en México - Federación Mexicana de Diabetes. [online] Available at: <http://fmdiabetes.org/principales-causas-mortalidad-mexico-2/>. Consultado en: junio 2019
- Feige, J. N., Gelman, L., Michalik, L., Desvergne, B., & Wahli, W. (2006). From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Progress in lipid research*, 45(2), 120-159.
- Fernández, P., Moreno González, A., Leza Cerro, J., Hernández, I., Moro Sánchez, M., & Portolés Pérez, A. (2009). Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica* (18th ed.). Panamericana.
- Gaitén, Y. I. G., Lizama, R. S., Simón, G. G., & Álvarez, A. M. (2018). Evaluación farmacognóstica, fitoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de *Tagetes lucida* Cavanilles. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(2).
- García-Díaz, J. A., Navarrete-Vázquez, G., García-Jiménez, S., Hidalgo-Figueroa, S., Almanza-Pérez, J. C., Alarcón-Aguilar, F. J., ... & Estrada-Soto, S. (2016). Antidiabetic, antihyperlipidemic and anti-inflammatory effects of tilianin in streptozotocin-nicotinamide diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 667-675.
- García-Sánchez, F., López-Villafranco, ME, Aguilar-Rodríguez, S., & Aguilar-Contreras, A. (2012). Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. *Ciencias Botánicas*, 90 (3), 221-232.
- Ghezzi, C., Loo, D. D., & Wright, E. M. (2018). Physiology of renal glucose handling via SGLT1, SGLT2 and GLUT2. *Diabetologia*, 61(10), 2087-2097.

GINA: Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention.
Disponibile en: <http://www.ginasthma.com>

Gómez Puyou, M., & García Trejo, J. (2015). La bioenergética, las mitocondrias y la fosforilación oxidativa. *Revista.unam.mx*. Retrieved 7 June 2019, from <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num1/art05/>.

Gross, B., & Staels, B. (2007). PPAR agonists: multimodal drugs for the treatment of type-2 diabetes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 21(4), 687-710.

Grundy, S. M. (2006). Drug therapy of the metabolic syndrome: minimizing the emerging crisis in polypharmacy. *Nature reviews Drug discovery*, 5(4), 295-309.

Grundy, S. M. (2006). Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(6), 1093-1100.

Guadarrama. C. G., Alarcón. F. J., Vega. A. E., Vázquez. P. G., & Bonilla. J. H. (2012). Antidepressant-like effect of *Tagetes lucida* Cav. extract in rats: involvement of the serotonergic system. *The American Journal of Chinese Medicine*, 40(04), 753-768.

Guan, Y., & Breyer, M. D. (2001). Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): novel therapeutic targets in renal disease. *Kidney international*, 60(1), 14-30.

Guerre-Millo, M. (1995). Les transporteurs d'hexoses. From http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2420/MS_1995_8_1111.pdf.
Consultado en: octubre 2019

Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A., & Olivares-Reyes, J. A. (2017). Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: una actualización. *Gaceta médica de México*, 153(2), 214-228.

Hidalgo-Figueroa, S., Ramírez-Espinosa, J. J., Estrada-Soto, S., Almanza-Pérez, J. C., Román-Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F. J., ... & Navarrete-Vázquez, G. (2013). Discovery of Thiazolidine-2, 4-Dione/Biphenylcarbonitrile Hybrid as Dual PPAR α/γ Modulator with Antidiabetic Effect: In vitro, *In Silico* and *In Vivo* Approaches. *Chemical biology & drug design*, 81(4), 474-483.

Hunt, K. J., Williams, K., Rivera, D., O'Leary, D. H., Haffner, S. M., Stern, M. P., & González Villalpando, C. (2003). Elevated carotid artery intima-media thickness levels in individuals who subsequently develop type 2 diabetes. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(10), 1845-1850.

IDF Diabetes Atlas, 2017, Octava edición. Tomado de: <http://www.diabetesatlas.org/>.
Consultado: junio 2019

- Iranshahi, M. E. H. R. D. A. D., Askari, M., Sahebkar, A., & Hadjipavlou, L. D. (2009). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin.**
- Juge-Aubry, C., Pernin, A., Favez, T., Burger, A. G., Wahli, W., Meier, C. A., & Desvergne, B. (1997). DNA Binding Properties of Peroxisome Proliferator-activated Receptor Subtypes on Various Natural Peroxisome Proliferator Response Elements IMPORTANCE OF THE 5'-FLANKING REGION. Journal of Biological Chemistry, 272(40), 25252-25259.**
- Katzung, B. G., & Trevor, A. J. (2017). Farmacologia Básica e Clínica-13. McGraw Hill Brasil.**
- Kleiner, S., Nguyen-Tran, V., Baré, O., Huang, X., Spiegelman, B., & Wu, Z. (2009). PPAR δ agonism activates fatty acid oxidation via PGC-1 α but does not increase mitochondrial gene expression and function. Journal of Biological Chemistry, 284(28), 18624-18633.**
- Kliwer, S. A., Sundseth, S. S., Jones, S. A., Brown, P. J., Wisely, G. B., Koble, C. S., ... & Lehmann, J. M. (1997). Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors α and γ . Proceedings of the National Academy of Sciences, 94(9), 4318-4323.**
- Kliwer, S. A., Umesono, K., Noonan, D. J., Heyman, R. A., & Evans, R. M. (1992). Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. Nature, 358(6389), 771-774.**
- Kuklinski, C. (2000). Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural (No. 615.321 K855F.).**
- Kumar, V., Cotran, R. S., & Robbins, S. L. (2013). *Patología humana*. Elsevier Health Sciences.**
- Kuniyasu, H. (2008). The roles of dietary PPAR γ ligands for metastasis in colorectal cancer. PPAR research, 2008.**
- Kurpis, J., Serrato-Cruz, M. A., & Arroyo, T. P. F. (2019). Modeling the effects of climate change on the distribution of *Tagetes lucida* Cav.(Asteraceae). *Global Ecology and Conservation*, 20, e00747.**
- Landgraf, R. R., Chalmers, M. J., & Griffin, P. R. (2011). Automated hydrogen/deuterium exchange electron transfer dissociation high resolution mass spectrometry measured at single-amide resolution. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 23(2), 301-309.**
- Lara Ochoa, F., & Márquez Alonso, C. (1996). Plantas medicinales de México: composición, usos y actividad biológica.**
- Lehninger, A., Nelson, D., & Cox, M. (2005). Principios de bioquímica (4th ed., pp. 238-239). Barcelona: Omega.**

- Lemberger, T., Desvergne, B., & Wahli, W. (1996). Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. *Annual review of cell and developmental biology*, 12(1), 335-363.
- Martínez, JE, de Fátima Taipeiro, E. y Chies, AB (2017). Efectos del ejercicio continuo y acumulado sobre la función endotelial en la aorta de rata. *Arquivos Brasileiros de Cardiología*, 108 (4), 315–322. <https://doi.org/10.5935/abc.20170036>.
- Mazari, EL, Boettler, RAB y Flores, B. (1999). Plantas medicinales de México: Usos y remedios tradicionales. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología UNAM.
- Membrana plasmática y citoplasma. (2019). From <https://es.khanacademy.org/science/biology/structure-of-a-cell/prokaryotic-and-eukaryotic-cells/a/plasma-membrane-and-cytoplasm>. Consultado en: octubre 2019
- Molinspiration Cheminformatics. Molinspiration.com. (2020). Disponible en: <https://www.molinspiration.com/>. Consultado en: abril, 2023.
- Monsalve, F. A., Pyarasani, R. D., Delgado-Lopez, F., & Moore-Carrasco, R. (2013). Peroxisome proliferator-activated receptor targets for the treatment of metabolic diseases. *Mediators of inflammation*, 2013.
- Moore K. L.; Dalley A. (2009) Anatomía con orientación clínica México D.F. Panamericana 6ª edición.
- Morimoto-Martinez S., 2000. Mecanismos moleculares que intervienen en la regulación de la síntesis de insulina por glucosa, *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González*, 3. 118-120.
- NORMA Oficial Mexicana (NOM-015-SSA2-2010) Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus.
- Olivares, J. A., Arellano, A. (2008) Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de educación bioquímica* 27, 9-18.
- OMS, 2022 Diabetes, México 2022. Tomado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Consultado en: julio 2022
- OMS, 2023 Asma, Organización Mundial de la Salud. Tomado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/asthma>. Consultado en: febrero 2023.
- OMS. (2019). Tomado de: <https://www.who.int/es>. Consultado en: Nov, 2019.
- OMS. 2022. LA EPIDEMIA MUNDIAL DE ENFERMEDADES CRÓNICAS. Tomado de: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/OPS-Detener-epidemia-mundial-EC-2006.pdf>. Consultado en: junio 2019

OMS. 2022. Diabetes. Tomado de: https://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/. Consultado en: junio 2022

OMS. 2022. Las 10 principales causas de defunción. Tomado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Consultado en: junio 2022

OMS.2022. Enfermedades no transmisibles. Tomado de: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>. Consultado en: junio 2022

Oparil, S., Schmieder, RE. (2015). Nuevos enfoques en el tratamiento de la hipertensión.

Ortiz-Andrade, R. R., Sánchez-Salgado, J. C., Navarrete-Vázquez, G., Webster, S. P., Binnie, M., García-Jiménez, S., ... & Estrada-Soto, S. (2008). Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(11), 1097-1104.

Ota, M., Sato, M., Sato, Y., Smith Jr. R.L., Inomata, H. (2017). ELSEVIER. 128, 166-172.

Pereira, A. S., Banegas-Luna, A. J., Peña-García, J., Pérez-Sánchez, H., & Apostolides, Z. (2019). Evaluation of the anti-diabetic activity of some common herbs and spices: providing new insights with inverse virtual screening. *Molecules*, 24(22), 4030.

Perpiñá T. M.; Lloris B. A. (2004) Los broncodilatadores, esos fármacos maravillosos. *Archive of Bronconeumology Supl 1 Vol. 40: 16-22*.

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-030-SSA2-2017, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. *Diario Oficial de la Federación*. 19/04/2017.

PubChem. Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. (2020). Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consultado en: abril, 2020.

Raff, H., Levitzky, M., Barman, S., Rivera Muñoz, B., & Arias Rebatet, G. (2013). *Fisiología médica (1st ed.)*. México: McGraw-Hill Interamericana.

Rios, M.Y., López-Martínez, S., López-Vallejo, F., Medina-Franco, J.L., Villalobos- Molina, R., Ibarra-Barajas, M., Navarrete-Vázquez, M., Hidalgo-Figueroa, S., Hernández-Abreu, O., Estrada-Soto, S., 2012. Vasorelaxant activity of some structurally-related triterpenic acids from *Phoradendron reichenbachianum* (Viscaceae) mainly by NO production: *ex vivo* and *in silico* studies. *Fitoterapia* 83, 1023–1029.

Rodgers, R. J., Tschöp, M. H., & Wilding, J. P. (2012). Anti-obesity drugs: past, present and future. *Disease models & mechanisms*, 5(5), 621-626.

- Rzedowski, J., de Rzedowski, G. C., del Bajío, C. R., & Pátzcuaro, M. (2015). Flora del Bajío y de regiones adyacentes (Vol. 31, pp. 1-36).
- Sánchez-Pérez, A., Muñoz, A., Peña-García, J., den-Haan, H., Bekas, N., Katsikoudi, A., ... & Pérez-Sánchez, H. (2015, April). DIA-DB: A Web-Accessible Database for the Prediction of Diabetes Drugs. In *International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering* (pp. 655-663). Springer, Cham.
- Sánchez-Recillas, A., Navarrete-Vázquez, G., Hidalgo-Figueroa, S., Rios, MY, Ibarra-Barajas, M., & Estrada-Soto, S. (2014). Estudios de semisíntesis, evaluación *ex vivo* y SAR de derivados de la cumarina como posibles fármacos antiasmáticos. *Revista europea de química médica*, 77, 400-408.
- Sánchez-Salgado, J.C., Castillo-España, P., Ibarra-Barajas, M., Villalobos-Molina, R., Estrada-Soto, S., 2010. Cochlospermum vitifolium induces vasorelaxant and antihypertensive effects mainly by activation of NO/cGMP signaling pathway. *J. Ethnopharmacol.* 130, 477–484.
- 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
- Serrato-Cruz, M. Á., Díaz-Cedillo, F., & Barajas-Pérez, J. S. (2008). Composition of essential oil in germplasm of *Tagetes filifolia* Lag. from Central-South region of México. *Agrociencia*, 42(3), 277-285.
- SGA. 2011. Sistema globalmente armonizado de clasificación de etiquetado de productos químicos (SGA). 4ta. edición. Naciones unidas.
- Srivastava, A., Yano, J., Hirozane, Y., Kefala, G., Gruswitz, F., Snell, G., ... & Jennings, A. (2014). High-resolution structure of the human GPR40 receptor bound to allosteric agonist TAK-875. *Nature*, 513(7516), 124-127.
- Sugii, S., Olson, P., Sears, D. D., Saberi, M., Atkins, A. R., Barish, G. D., ... & Hsiao, G. (2009). PPAR γ activation in adipocytes is sufficient for systemic insulin sensitization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(52), 22504-22509.
- Suter, P., M., Sierro, C., Vetter, W. (2002). Nutritional factors in the control of blood pressure and hypertension.
- Sutton, J. M., Clark, D. E., Dunsdon, S. J., Fenton, G., Fillmore, A., Harris, N. V., ... & Duttaroy, A. (2012). Novel heterocyclic DPP-4 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(3), 1464-1468.
- Tahrani, A. A., Barnett, A. H., & Bailey, C. J. (2013). SGLT inhibitors in management of diabetes. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 1(2), 140-151.

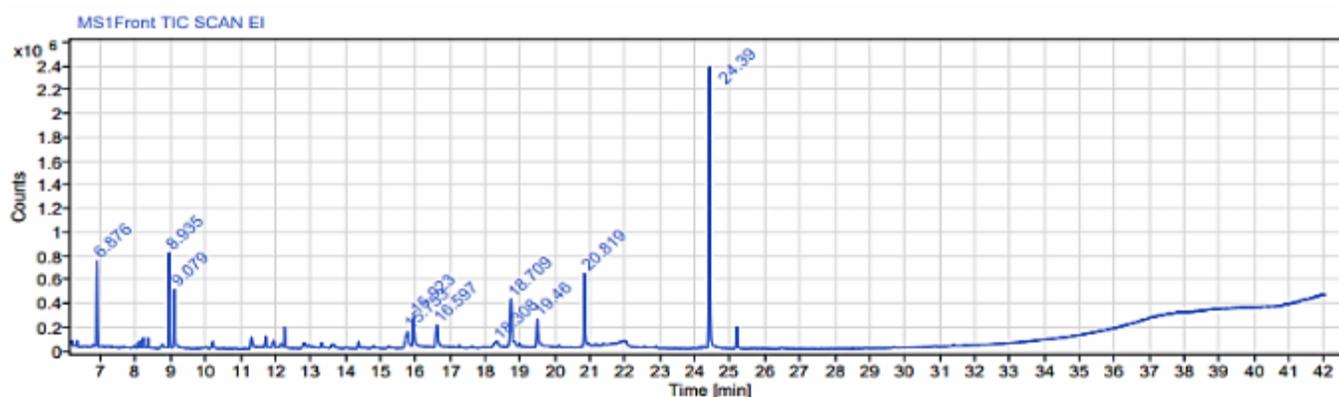
- Tahrani, A. A., Piya, M. K., Kennedy, A., & Barnett, A. H. (2010). Glycaemic control in type 2 diabetes: targets and new therapies. *Pharmacology & therapeutics*, 125(2), 328-361.
- Takayanagi, K., Morimoto, S. I., Shirakura, Y., Mukai, K., Sugiyama, T., Tokuji, Y., & Ohnishi, M. (2011). Mechanism of visceral fat reduction in Tsumura Suzuki obese, diabetes (TSOD) mice orally administered β -cryptoxanthin from Satsuma mandarin oranges (*Citrus unshiu* Marc). *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(23), 12342-12351.
- Tautz, L., Critton, D. A., & Grotegut, S. (2013). Protein tyrosine phosphatases: structure, function, and implication in human disease. *Phosphatase Modulators*, 179-221.
- Teijón Rivera, J., & Garrido Pertierra, A. (2009). *Fundamentos de bioquímica metabólica* (3a. ed.) (3rd ed., pp. 13-16). Madrid: Editorial Tébar Flores.
- Teutsch, H. G., Hasenfratz, M. P., Lesot, A., Stoltz, C., Garnier, J. M., Jeltsch, J. M., ... & Werck-Reichhart, D. (1993). Isolation and sequence of a cDNA encoding the Jerusalem artichoke cinnamate 4-hydroxylase, a major plant cytochrome P450 involved in the general phenylpropanoid pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(9), 4102-4106.
- Tontonoz, P., & Spiegelman, B. M. (2008). Fat and beyond: the diverse biology of PPAR γ . *Annu. Rev. Biochem.*, 77, 289-312.
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2011). *Principios de anatomía y fisiología* (13th ed., pp. 902-935). México: Editorial Médica Panamericana.
- Turner, R. C., Cull, C. A., Frighi, V., Holman, R. R., & UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1999). Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *Jama*, 281(21), 2005-2012.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1998). Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *The Lancet*, 352(9131), 854-865.
- Van Zandt, M. C., Doan, B., Sawicki, D. R., Sredy, J., & Podjarny, A. D. (2009). Discovery of [3-(4, 5, 7-trifluoro-benzothiazol-2-ylmethyl)-pyrrolo [2, 3-b] pyridin-1-yl] acetic acids as highly potent and selective inhibitors of aldose reductase for treatment of chronic diabetic complications. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(7), 2006-2008.
- Van Zandt, M. C., Doan, B., Sawicki, D. R., Sredy, J., & Podjarny, A. D. (2009). Discovery of [3-(4, 5, 7-trifluoro-benzothiazol-2-ylmethyl)-pyrrolo [2, 3-b] pyridin-1-yl] acetic acids as highly potent and selective inhibitors of aldose reductase for treatment of chronic diabetic complications. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(7), 2006-2008.

- Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed research international*, 2013.
- Werman, A., Hollenberg, A., Solanes, G., Bjørnbæk, C., Vidal-Puig, A. J., & Flier, J. S. (1997). Ligand-independent activation domain in the N terminus of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) Differential activity of PPAR γ 1 and-2 isoforms and influence of insulin. *Journal of Biological Chemistry*, 272(32), 20230-20235.
- Willson, T. M., Lambert, M. H., & Kliewer, S. A. (2001). Peroxisome proliferator-activated receptor γ and metabolic disease. *Annual review of biochemistry*, 70(1), 341-367.
- Wood, I. S., & Trayhurn, P. (2003). Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *British journal of nutrition*, 89(1), 3-9.
- Young Peralta, S. (2016). Determinación del efecto antidiabético y toxicológico de un derivado 1,5-diaril-1H-pirazol-3-carbohidrazida, en un modelo murino (Licenciatura). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS.
- Zhu, Y., Qi, C., Calandra, C., Rao, M. S., & Reddy, J. K. (1996). Cloning and identification of mouse steroid receptor coactivator-1 (mSRC-1), as a coactivator of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Gene Expression The Journal of Liver Research*, 6(3), 185-195.
- Zhu, Y., Qi, C., Jain, S., Rao, M. S., & Reddy, J. K. (1997). Isolation and characterization of PBP, a protein that interacts with peroxisome proliferator-activated receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 272(41), 25500-25506.
- Zygadlo, J. A., Grosso, N. R., Abburra, R. E., & Guzman, C. A. (1990). Essential oil variation in *Tagetes minuta* populations. *Biochemical systematics and ecology*, 18(6), 405-407.

7.23 ANEXOS:

7.23.1 Cromatogramas del precipitado

Data file:	2021-05-21 21-39-22-05-00-03.dx	Project Name:	AROMATICOS
Sequence Name:	GCMS-2021-05-21 19-56-30-05-00	Operator :	Lab Parasitología
Sample name:	jm	Acquired on:	2021-05-21 21:47:11-05:00
Instrument:	GCMS	Location:	102
Inj. volume:	1.000	Type:	Sample
Acq. method:	EMANUELSCAN.amx	Sample amount:	0.00
Processing method:	*MS_emanuelscan.pmx		



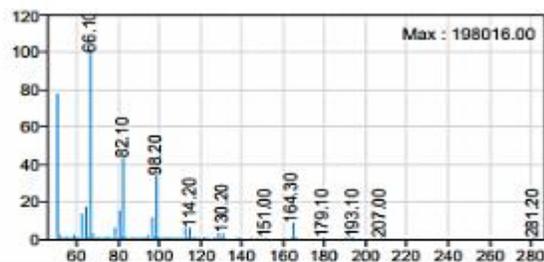
Identified peaks from method library

No compound from the identification list had been identified in this analysis

Most abundant unknown peaks library search (peak area at least 0.1 %)

Retention Time : 6.876 min

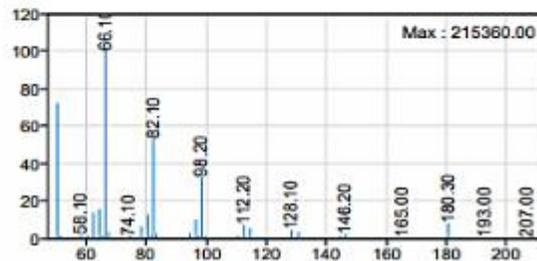
Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	732946	1206615	12	7



Library Search Results :

Retention Time : 8.935 min

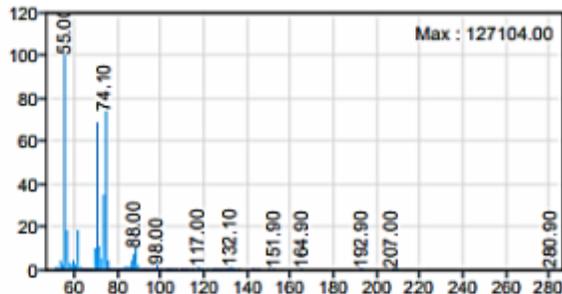
Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	808476	1382343	13	8



Library Search Results :

Retention Time : 9.079 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	497104	1183359	8	7

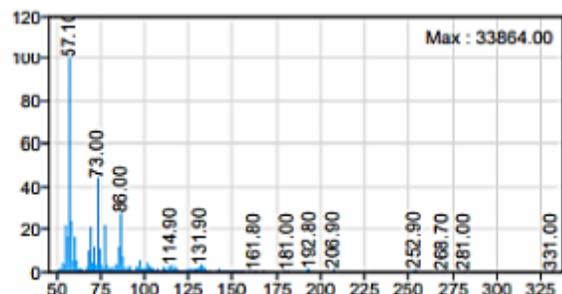


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
1-Butanol, 3-methyl-, formate	720	815	35.87	110-45-2
Formic acid, 3-methylbut-2-yl ester	705	800	21.74	
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	694	734	14.91	123-92-2
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	681	743	9.63	624-41-9
Acrylic acid isoamyl ester	659	732	3.8	4245-35-6

Retention Time : 15.753 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	137824	910769	2	5

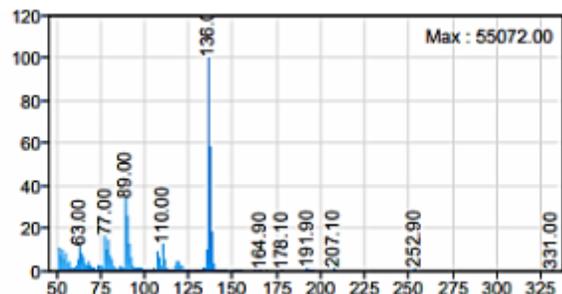


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
Melezitose	724	737	32.73	597-12-6
d-Mannose	700	722	10.96	3458-28-4
L-Glucose	700	721	10.96	921-60-8
Sucrose	685	873	6.64	57-50-1
d-Glycero-d-ido-heptose	685	707	6.64	

Retention Time : 15.923 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	261543	894490	4	5

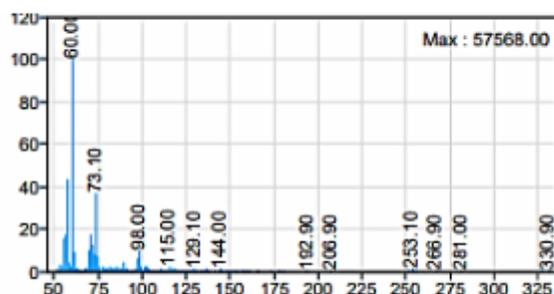


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
(3-Nitrophenyl) methanol, n-butyl ether	694	755	14.83	
(3-Nitrophenyl) methanol, n-propyl ether	680	745	9.28	
(3-Nitrophenyl) methanol, n-pentyl ether	670	716	6.55	
(3-Nitrophenyl) methanol, 3-methylbutyl ether	668	718	6.04	
Cyclopenta[c]pyrazol-3-amine, 2,4,5,6-tetrahydro-2-methyl-	657	747	4.14	

Retention Time : 16.597 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	190459	961618	3	6

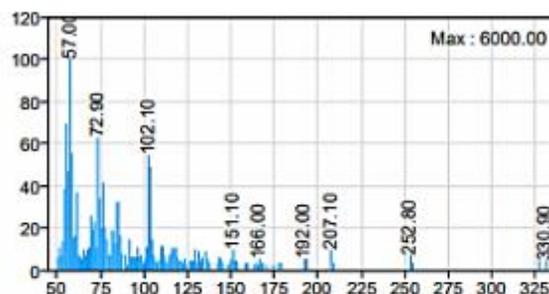


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
D-Allose	768	881	31.99	2595-97-3
3,4-Altrosan	751	847	17.46	
β -D-Glucopyranose	727	766	5.85	492-61-5
Melezitose	725	741	5.39	597-12-6
Lactose	723	768	4.97	63-42-3

Retention Time : 18.308 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	53996	523636	1	3

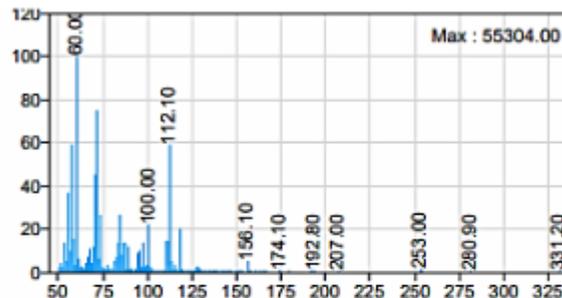


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
I-Gala-I-ido-octose	658	769	26.88	
1-Nitro- β -d-arabinofuranose, tetraacetate	627	646	7.32	
Acetic acid, 2,2'-[oxybis(2,1-ethanedioxy)]bis-	622	697	5.9	13887-98-4
1,8-Di(4-nitrophenylmethyl)-3,6-diazahomoadamantan-9-one	610	646	3.93	
Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	607	656	3.47	52355-42-7

Retention Time : 18.709 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	409865	1972288	6	12

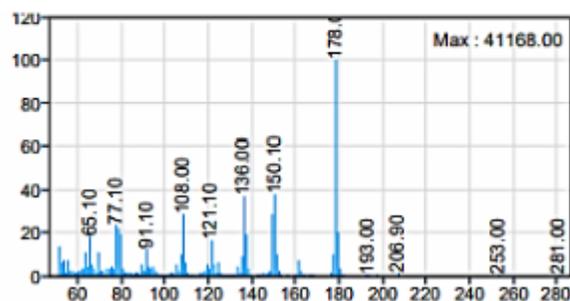


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
Quinic acid	660	672	18.88	77-95-2
1,2,3,5-Cyclohexanetetrol, (1 α ,2 β ,3 α ,5 β)-	639	749	8.03	53585-08-3
Propanoic acid, 2-methyl-, 2-ethylhexyl ester	639	688	8.03	35061-61-1
9-Oxa-bicyclo[3.3.1]nonane-1,4-diol	632	680	6.15	35377-88-9
9-Oxabicyclo[3.3.1]nonan-2-one, 5-hydroxy-	618	651	3.85	35519-67-6

Retention Time : 19.46 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	236007	764913	4	5

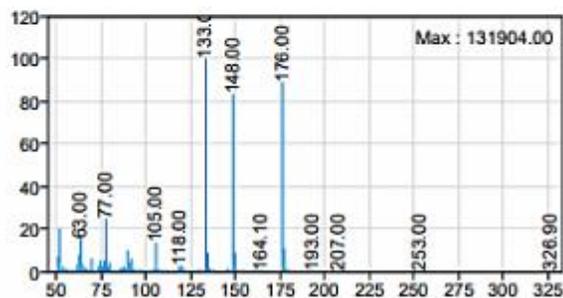


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
4-Pyrrolidin-1-yl-benzene-1,3-diol	727	735	17.14	
6-Methoxychroman-2-one	724	781	15.14	
11-Oxatetracyclo[5.3.2.0(2,7).0(2,8)]dodecan-9-one	718	724	11.9	
Carbamic acid, N-[(N-cyanomethylpropanamide)-2-yl]-, 1-meth	704	726	7.45	
(5-Oxo-2-thiophen-2-yl-cyclopent-1-enyl)acetic acid	696	706	5.56	

Retention Time : 20.819 min

Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	627019	1418005	10	9

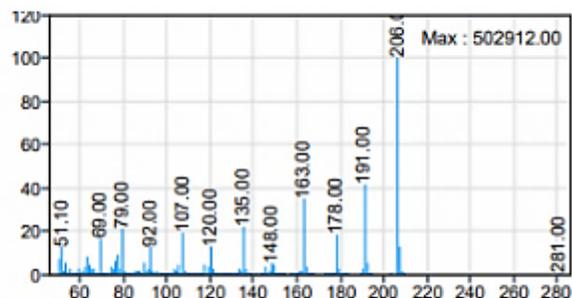


Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
2H-1-Benzopyran-2-one, 7-methoxy-	886	894	84	531-59-9
4-Methoxycoumarin	768	778	4.66	20280-81-3
2H-1-Benzopyran-2-one, 8-methoxy-	765	770	4.11	2445-81-0
4H-Chromen-4-one, 7-methoxy-	742	752	1.5	5751-52-0
1H-1,2,3,4-Tetrazole, 5-(4-methoxyphenyl)-	741	784	1.44	

Retention Time : 24.39 min

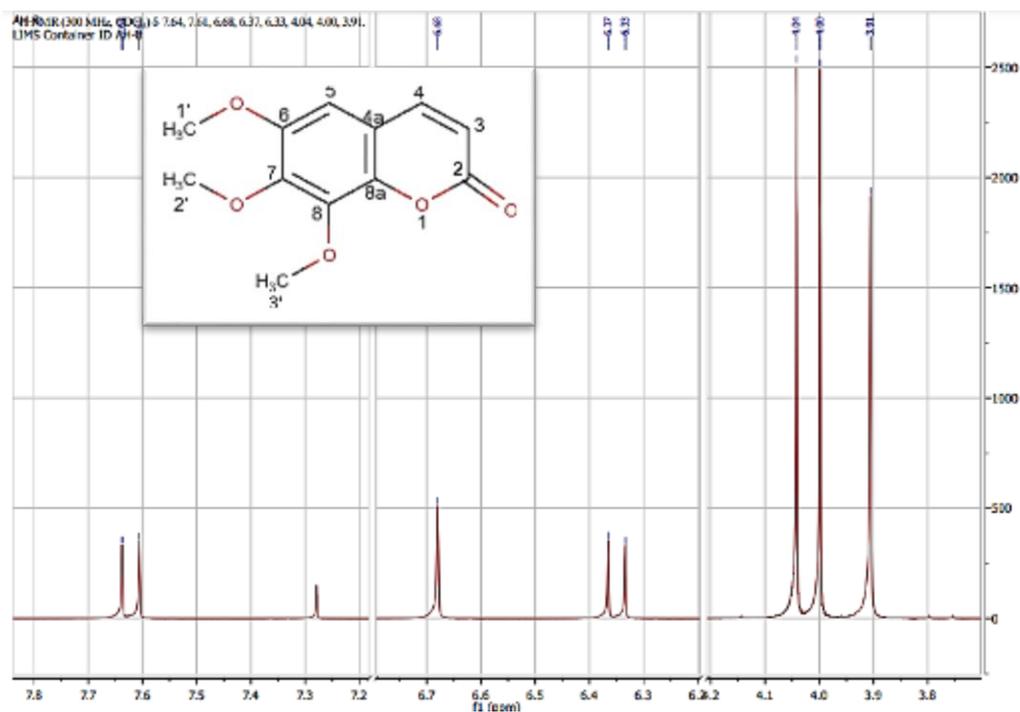
Signal Name	Height	Area	Height %	Area %
MS1Front TIC SCAN EI	2390610	5396810	38	32



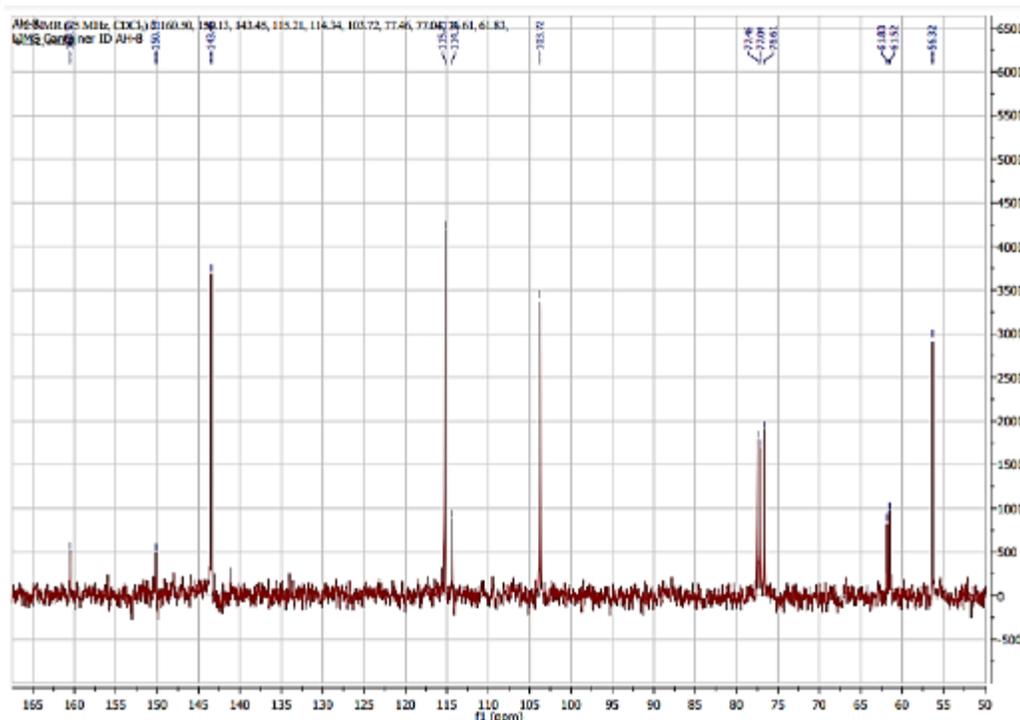
Library Search Results :

Compound Name	Score	Rev. Score	Prob. %	CAS #
Scoparone	889	891	78.81	120-08-1
5,8-Dimethoxycoumarin	817	817	10.97	57585-52-1
7,8-Dimethoxycoumarin	802	803	6.65	2445-80-9
4-Methoxy-6-methoxycoumarin	766	766	1.64	
2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-6-methoxy-4-methyl-	742	851	0.55	3374-03-6

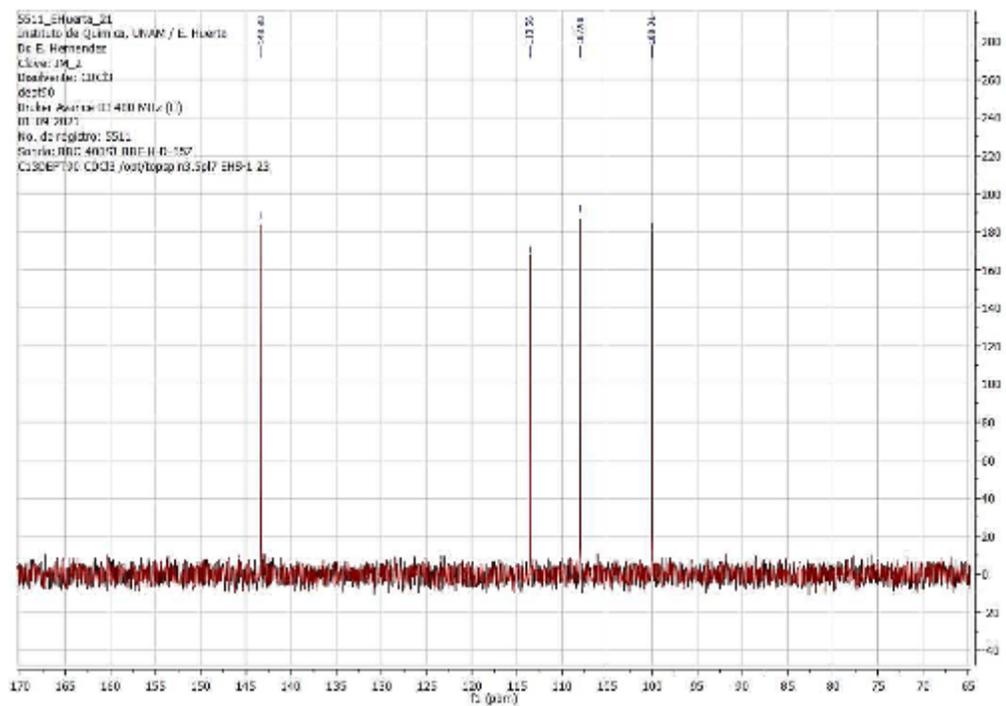
7.23.2 Espectros



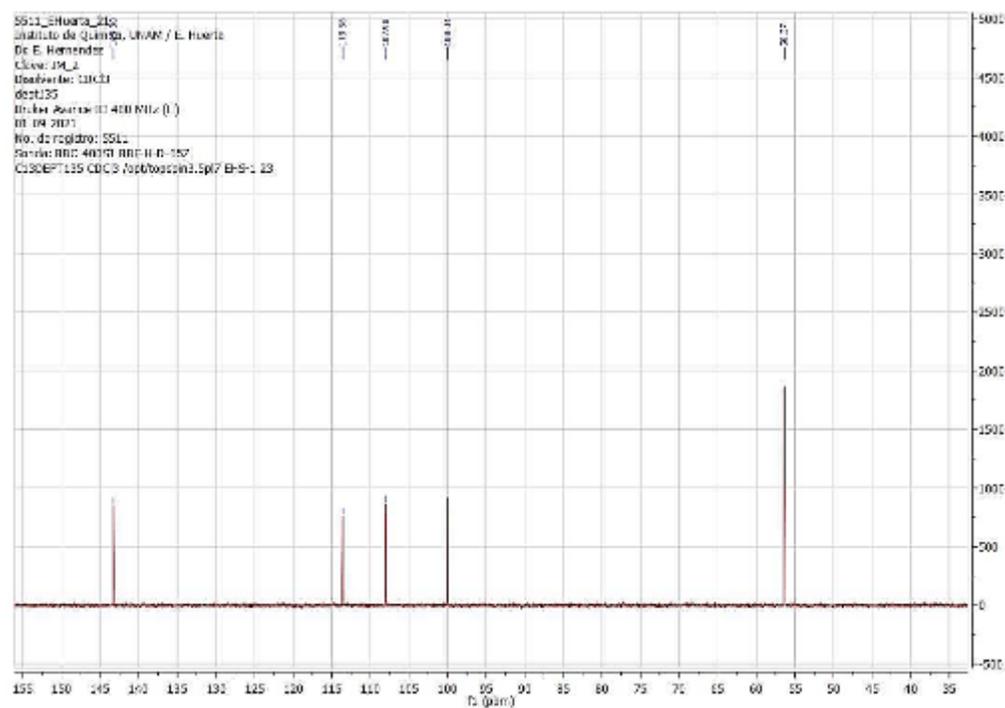
Espectro 1. Espectro de RMN ¹H de 6,7,8-trimetoxicumarina. (JM-1)



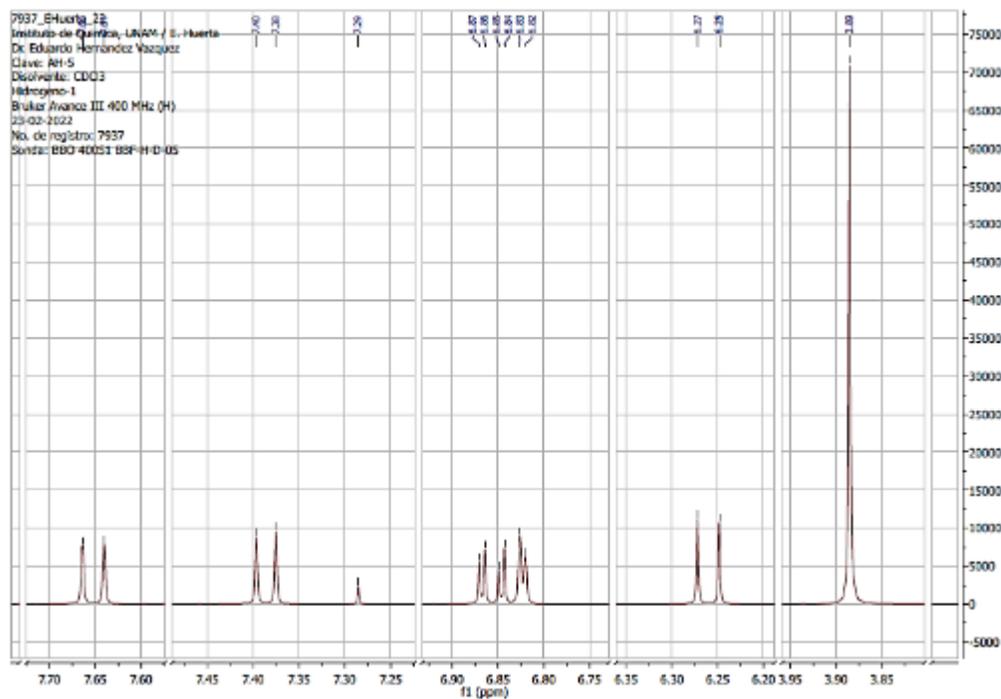
Espectro 2. Espectro de RMN ¹³C de 6,7,8-trimetoxicumarina. (JM-1).



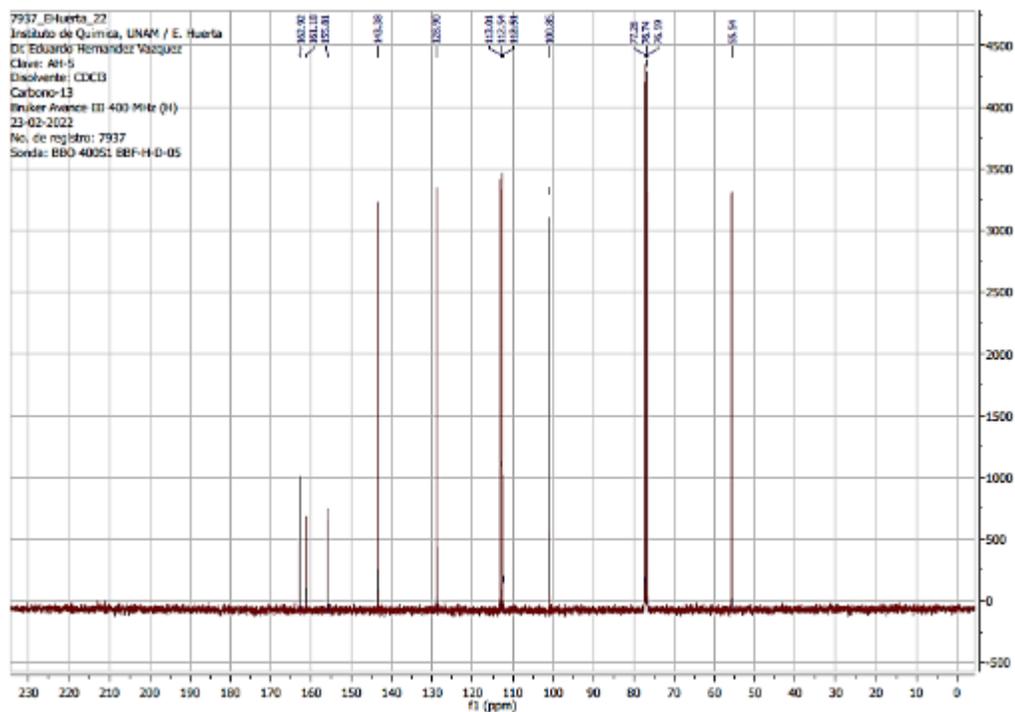
Espectro 5. Espectro de RMN ^{13}C DEPT-90 de 6,7-dimetoxicumarina (JM-2).



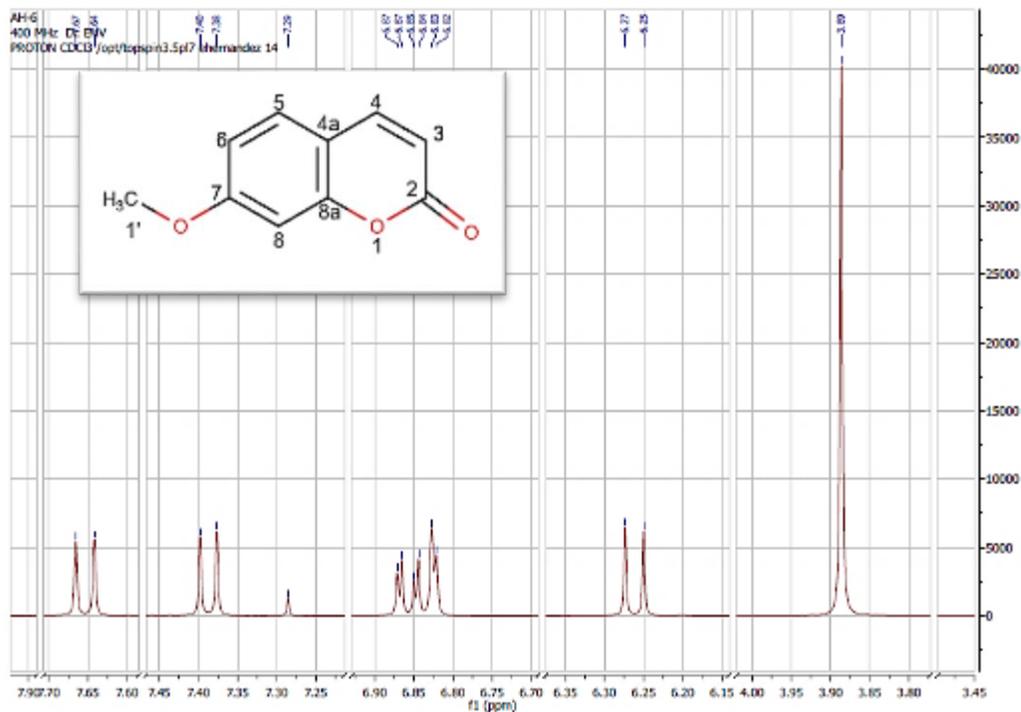
Espectro 6. Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 de 6,7-dimetoxicumarina (JM-2).



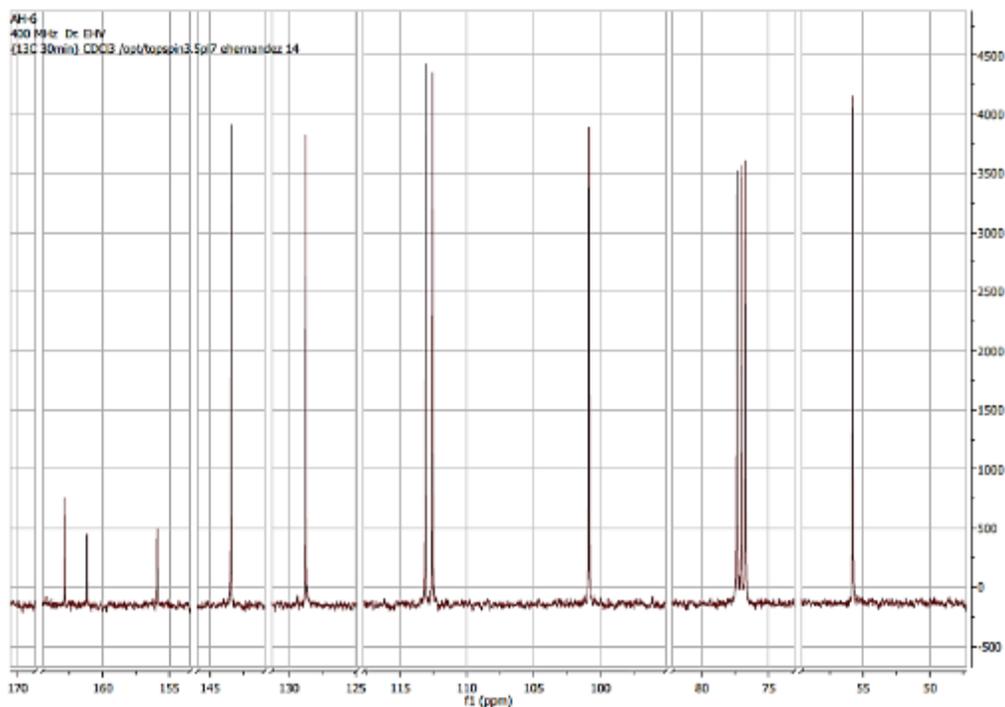
Espectro 7. Espectro de RMN ¹H de 7-metoxicumarina (AH-5).



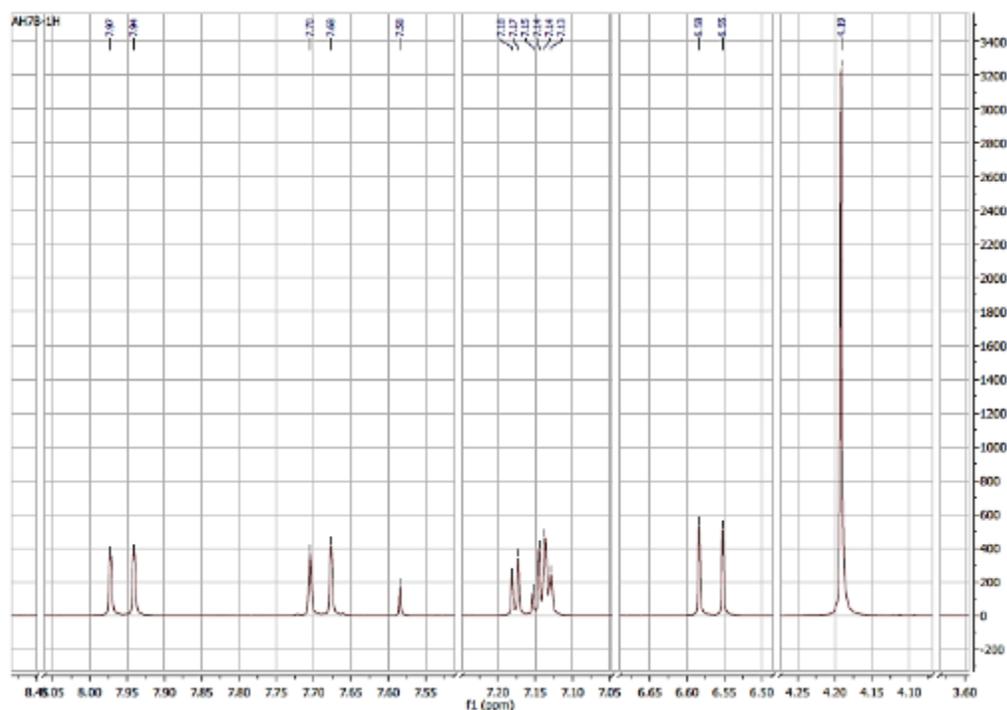
Espectro 8. Espectro de RMN ¹³C de 7-metoxicumarina (AH-5).



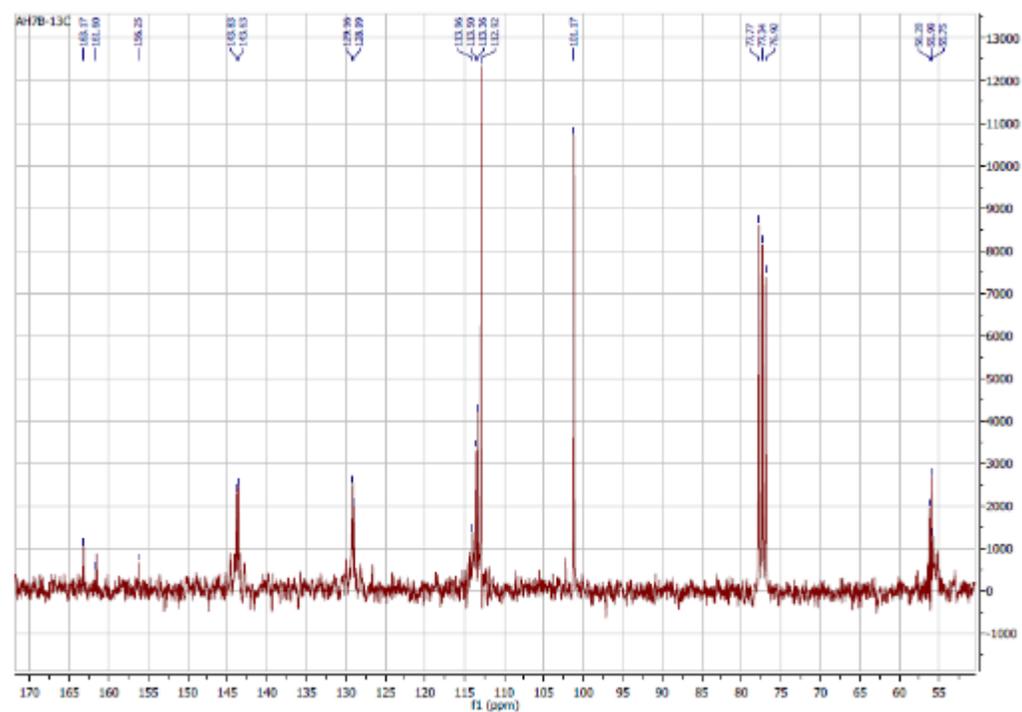
Espectro 9. Espectro de RMN ¹H de 7-metoxicumarina (AH-6).



Espectro 10. Espectro de RMN ¹³C de 7-metoxicumarina (AH-6).

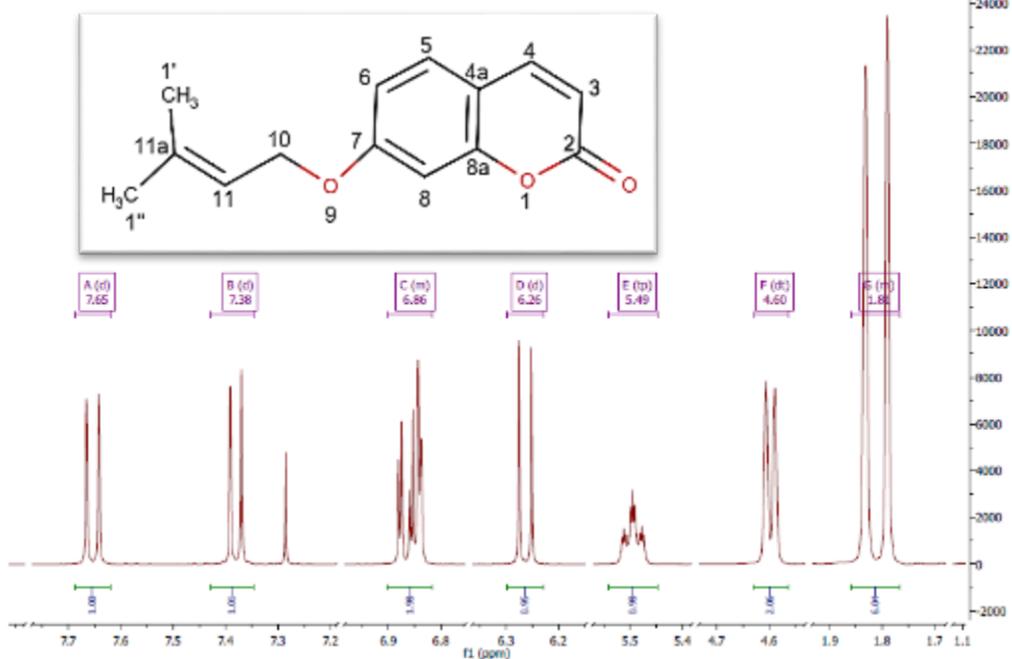


Espectro 11. Espectro de RMN ^1H de 7-metoxicumarina (AH-7).

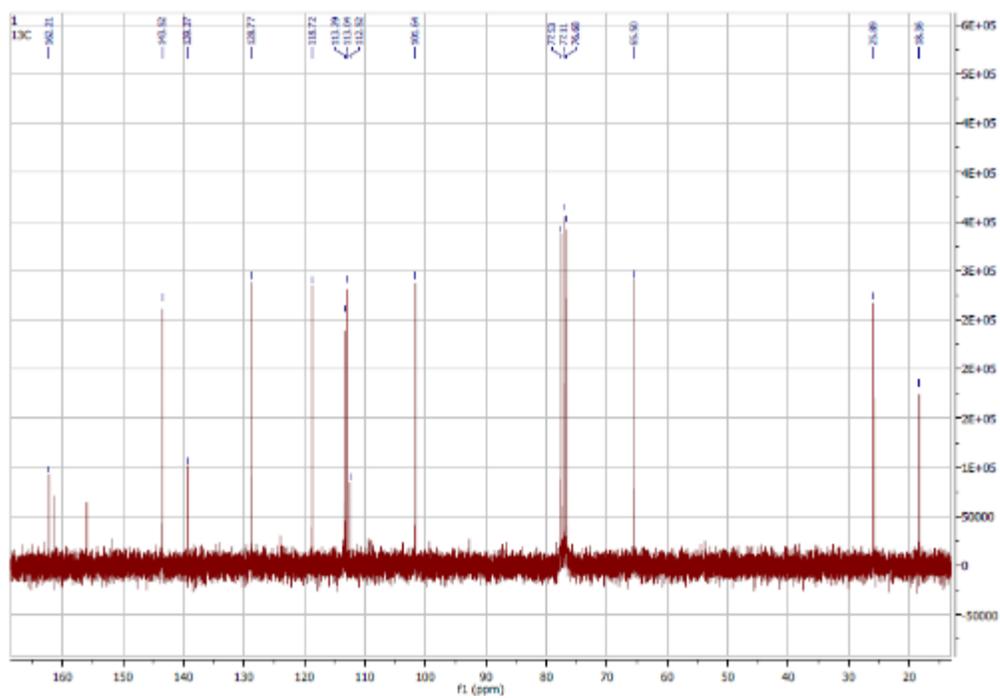


Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C de 7-metoxicumarina (AH-7).

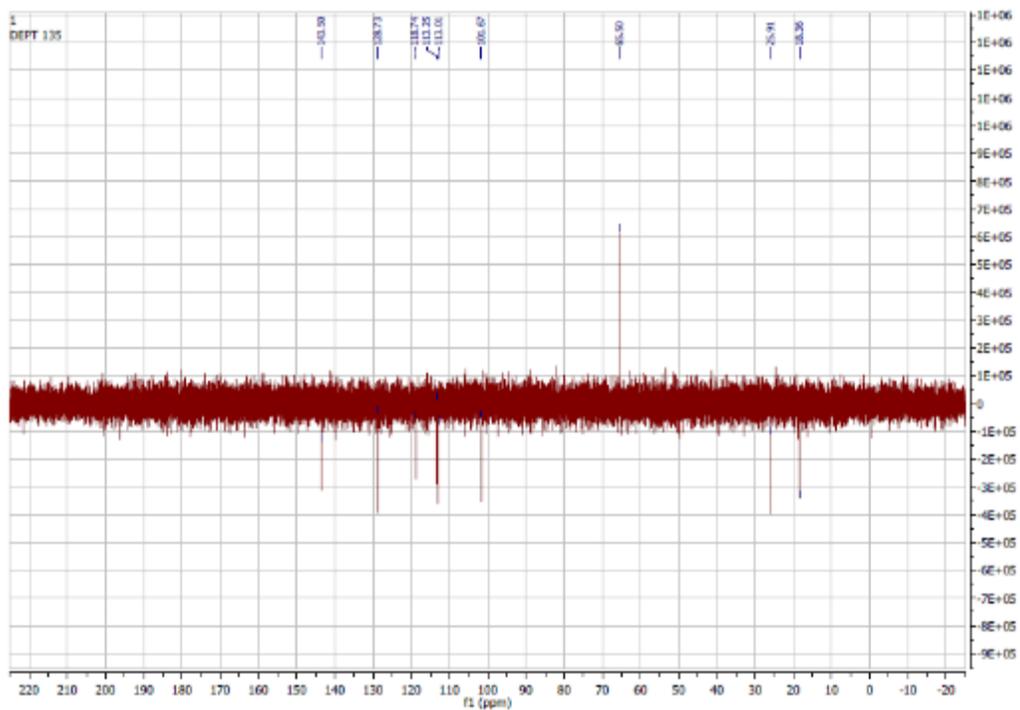
AH-4b.10.fid
(PROTON 32sc) CD03 /opt/topspin3.5pr7 ehemandaz 11



Espectro 13. Espectro de RMN ¹H de 7-preniloxicumarina (AH-4).



Espectro 14. Espectro de RMN ¹³C de 7-preniloxicumarina (AH-4).



Espectro 15. Espectro de RMN ¹³C de 7-preniloxycumarina (AH-4).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: JOSÉ MARTÍN MUNDO CAMPUZANO

**Título de la tesis: “DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO,
ANTIHIPERTENSIVO Y ANTIASMÁTICO DE *Tagetes lucida*”**

Grado a obtener:



Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. GERMÁN BERNAL FERNÁNDEZ

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

La tesis:

 Si se aprueba tal como se presenta

 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

27/10/2023

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

GERMAN BERNAL FERNANDEZ | Fecha:2023-11-06 11:43:21 | Firmante

FBkmns7vZKN+f0h8gqCoiT SBj2oLptofvdN83pP7VW3gO0qVgFAMNm8Q3pezRua2owjQPWmcwhuX+jbZ7efDQtbfc5i18oX9fiKiwDpXvcgdLnXy8uPUy1OWEnejWnektNGVeDNyqZ7cokeHKWJL+0l+s1jiiLGuyoCtiOKXtP8JqbbWQd5do9gC3CytE6/LG6L0fh/zMK/y3HZ/OHQB8FdWa1fnziJmEntDag0BTblvMkrJELt1ol53gi8LX9Ap34g6UQN50R9IKOG8oT+iSxujOJiGtwAx16oZ6EZtlgEBBEhbAczC1j3a8vmq3xMptXz+d1EAaTA0XmKhYAcA==

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



[dxj7XtaWw](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/VtAy1L50yvKMm32rQWkpq2H00Ztpipg>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

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

Nombre del alumno: JOSÉ MARTÍN MUNDO CAMPUZANO

**Título de la tesis: “DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO,
ANTIHIPERTENSIVO Y ANTIASMÁTICO DE *Tagetes lucida*”**

Grado a obtener:



Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. MARÍA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES

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

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Dra. María Crystal Columba Palomares

8/11/2023

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

MARIA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES | Fecha:2023-11-08 06:43:47 | Firmante

gkLlNIHlhbCUMrTweVvYIRRPUCBSVKvnuPAoV1TiAXe5yVhgOO5beRb2xZgOW55p6zsDRY8/rGjnxrKt5AbxxF7oKz6+yOLDs+fTKzbZefBhCyBqD3ah741dd7x/v8z45kjWCf82JVP/pmlvLGbZO3Dz9Z8e0DSoUizU86SFYuXsaJSErMJZmJN50VnglBMxFvbpFHLmYfi4Mo7+xlzEmB2Eu5YLz3SGsnqbOmKSxrLWmoKXxYcmNGD9Osf8qjCCsioB7In8LEMf9q qaxSo/rziEZeF1lcydTeZD+yOSu8DiK/wGizb7SmUicUTu9p9CEGRRebEYbMi9bC4J8rKP/A==

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



[WqR1XJAm7](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/1NLSHkXbZssv2gAdctVonGQQspvxrGLc>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: JOSÉ MARTÍN MUNDO CAMPUZANO

Título de la tesis: **“DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO,
ANTIHIPERTENSIVO Y ANTIASMÁTICO DE *Tagetes lucida*”**

Grado a obtener:



Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. MYRNA DÉCIGA CAMPOS

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

La tesis:



Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

27/10/2023

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

MYRNA DECIGA CAMPOS | Fecha:2023-11-08 18:43:06 | Firmante

Soofeo23aZqjm+n9B2xjF6E5b1Fni6Gk256i8675XEMS4gdfMfwogGw639N6voKIDMHvxQphDHgCXhJcz6NaQYgid/hswRPMSR3Le9zfAjNznACg3FvtGbJZHvfqhoszba0IR1XfzhJAaB/l61Whv/Mo+Un63rsbkylUqK149kU9ePB38u4mBWvmy9Y+KxA2ZLF4XyGQW88leTqKILTPP7ODSg6lyD+vOJzKu5nDROZZM1Hz6hwezgiS3U1CfajYmdDyarl5hrU4eTbhOzEwRoOcyrYDiku2lwCJO0KhUfzNnLxjECmhxwiO4vEhdr+zD1PpCoO8XiKm0x0BfpZmA==

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



[BctZnkehP](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/pWVJCRt3CN2jBKIFTbq2ukzukLR52M76>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: JOSÉ MARTÍN MUNDO CAMPUZANO

**Título de la tesis: “DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO,
ANTIHIPERTENSIVO Y ANTIASMÁTICO DE *Tagetes lucida*”**

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:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

27/10/2023

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:2023-11-09 10:48:59 | Firmante

MMzCyDyNUyWIN+s8lsFDEi/FBqZBySO35GxbL1ca43cvnSF8MPnfceexNgDr2tfAHidVW3cdURbQcLe/x8KY5c2v2Gh4CVXPzLGwxUzgV9gnSNsecWJmzj8ooCOPWYc2BrmM
RhtZw8eZ9ClnNwnmZVRr1W MX9g3Nyw6lau6OLlhPn5z5GTQJafKGPpVv1umyK/+KrU9EtrGb/dXQEi0uTasoFhpyesEPI/ABb+9Vi3QLLKTWHd3hTkwQdjw/CRVjP9+ke0tGx7E
DPLem9f2OzK9l9bFk9cmbfa5xFTGTv1bykfrX3cJI6DbMGOYgvs/QvJNJto5jITz67vPlhcsA==

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



[dq23OKBhP](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/VgUEnoeWUnecB6EivFLE42pTDiZo2Tzu>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: JOSÉ MARTÍN MUNDO CAMPUZANO

Título de la tesis: **“DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO,
ANTIHIPERTENSIVO Y ANTIASMÁTICO DE *Tagetes lucida*”**

Grado a obtener:



Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA

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

La tesis:



Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

27/10/2023

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

RAFAEL VILLALOBOS MOLINA | Fecha:2023-11-08 18:42:09 | Firmante

GWRAeuGI0jn4tRG0kk0lxu/1YkOOtZyvyGD54BvjurPTJ+Y4XdldUGkwgGyGCqLBO/TFVIsaXHGmPgrJ4jPvdmUU9ZkmBqHFoAx8Nr8+zWEYfsGzLd9TL/YdSxMraAIC2OfOJQQ
HBzxlTvjtnAAL/DNzv6Y/EmSRcpPAB6h5ID52pgkFTGmq68c97zwhqOnB+fbJvK85uXwdKq6uE5IGjL5ghVWZb2G0dd4FBbasXvJ1lJQ/puw5W+sxY2tqOtBILeVomAVHs0/xhVI
sTKt8aTC4KcftAcr2mIY3ehwBUsVubRAGbco1HT1t+URIE1b+9QBW1TfqeUjcgObyreg==

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



[iZKXCxkp7](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/iSjQRU4mnkI5CBDK6bWLxolfjh7fGor>

