



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

TÍTULO DEL TRABAJO:

“Evaluación de los extractos de *Struthanthus quercicola* en un modelo de ratas con diabetes inducida y aislamiento de los metabolitos secundarios con actividad antidiabética”

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

PRESENTA:

MC. CARELY DEL SOCORRO ARJONA RUIZ

Director de tesis

Co-director

Dra Denisse Atenea De Loera Carrera

Dra. Bertha Irene Juárez Flores

Asesor interno

Dra. Leticia Guadalupe Yáñez Estrada

Asesores externos:

Dr. Luis Manuel Peña Rodriguez

Dr. Francisco Elihu Bautista Redonda



San Luis Potosí, S.L.P.

Agosto 2022

Proyecto realizado en:

- Laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Laboratorio de Química Orgánica de la Unidad de Productos Naturales del Instituto Potosino de Ciencia y Tecnología.
- Laboratorio de Fotoquímica y Síntesis de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Laboratorio de Género, Salud y Ambiente de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Laboratorio de Química Orgánica de Productos Naturales de la Unidad de Biotecnología del Centro de Investigación Científica de Yucatán.



CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología



El programa de Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 003383.

Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: 583084.



Evaluación de los extractos de *Struthanthus quercicola* en un modelo de ratas con diabetes inducida y aislamiento de los metabolitos secundarios con actividad antidiabética por Arjona Ruíz Carely del Socorro se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

El presente trabajo fue sometido a análisis de similitud en la plataforma “turnitin” (<https://www.turnitin.com/es>). El informe de originalidad reportó un 21% de similitud. Num de identificación: 90210342.

Evaluación de los extractos de *Struthanthus quercicola* en un modelo de ratas con diabetes inducida y aislamiento de los metabolitos secundarios con actividad antidiabética

INFORME DE ORIGINALIDAD

21 %

ÍNDICE DE SIMILITUD



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

TÍTULO DEL TRABAJO:

“Evaluación de los extractos de *Struthanthus quercicola* en un modelo de ratas con diabetes inducida y aislamiento de los metabolitos secundarios con actividad antidiabética”

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

PRESENTA:

MC. CARELY DEL SOCORRO ARJONA RUIZ

SINODALES:

Dra Denisse Atenea De Loera Carrera _____

Dra. Bertha Irene Juárez Flores _____

Dra. Leticia Guadalupe Yáñez Estrada _____

Dr. Luis Manuel Peña Rodriguez _____

Dr. Francisco Elihu Bautista Redonda _____



San Luis Potosí, S.L.P.

Agosto 2022

AGRADECIMIENTOS

En la realización de este trabajo de tesis, quiero agradecer de manera muy especial, a mi directora de tesis, la **Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera** por todos los conocimientos transmitidos, por su ayuda, comprensión, por la confianza ofrecida y por el tiempo dedicado.

Así mismo, el más sincero agradecimiento a la **Dra. Bertha Irene Juárez Flores**, por su apoyo, sus enseñanzas en las técnicas de laboratorio, sus valiosas sugerencias, conocimientos e ideas aportadas a mi proyecto y por ser mi *crush* académico.

Por su orientación y atención a mis consultas sobre metodología, mi agradecimiento al **Dr. Luis Manuel Peña Rodríguez**, del Centro de Investigación Científica de Yucatán. Al **Dr. Francisco Elihú Bautista Redonda**, del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. También agradezco a la **Dra. Leticia Yáñez Estrada** por sus enseñanzas, orientación en las técnicas de laboratorio y apoyo otorgado.

Gracias a **mi familia**, por su apoyo, comprensión y amor. A mis hermanos; **Zelmy, Eyder y Gilmer**, porque por ellos tuve una infancia feliz, que atesoro, gracias a ellos seguí mis ideales y objetivos de vida. Gracias a mis amigos, **Felipe, Glendy, Margely, Leny, Yolanda y Braulio**, por su apoyo, horas de diversión y risas que hemos compartido. A **Virginia** por los resúmenes de libros, anime y mangas que me ha contado desde que tenía 15 años. A **Gisela** por el apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos estiman. A **Xitalick y Gabriel** por ser mi familia, por todo su cariño y apoyo. A **Gonzalo** por los videojuegos y pláticas geniales que compartimos. A **Edith** por ser mi psicóloga personal. A **Ivon, Tere y Thuruz** por hacerme sentir en familia aún lejos de la mía y por sus enseñanzas académicas y sociales. A **Patricia** (Patto) por la confianza y cariño. **Evelyn Regalado** gracias por tu paciencia y compañía.

A **Gaby García** por ser el entrelazamiento cuántico $[(i\partial - m) \psi = 0]$ con mi humanidad y por todo los inconmensurables momentos maravillosos que hemos vivido juntas.

Al grupo de investigación **IRAACH** por hacer de la experiencia de estudiar el posgrado, divertida, llena de anécdotas y de compañerismo.

RESUMEN

La medicina tradicional, tiene muchos beneficios hacia la cultura y la sociedad, además de ser fuente de productos naturales y compuestos con importantes aplicaciones químicas, biológicas e industriales. Estos compuestos representan una fuente para la generación de medicamentos útiles contra varias enfermedades como es la diabetes mellitus (DM). Los tratamientos actuales no son totalmente eficientes y/o eficaces a largo plazo para disminuir la patogénesis o evitar la progresión de la enfermedad. Además, los medicamentos involucrados inducen efectos adversos con distintos grados de severidad a corto y largo plazo.

En México se han reportado una gran cantidad de plantas que poseen una cierta actividad antidiabética, entre las que se encuentran algunas especies del género *Struthanthus*, las cuales son plantas hemiparásitas mejor conocidas como “muérdagos”. En la región Huasteca del estado de San Luis Potosí en México, una especie de planta denominada coloquialmente como “secapalo” es utilizada por médicos tradicionales para tratar la diabetes. Este género cuenta con pocos estudios reportados sobre sus componentes fitoquímicos y la actividad biológica.

En este trabajo se evaluó la actividad antidiabética *in vitro* e *in vivo* de los extractos acuosos de *S. quercicola* recolectada de dos hospederos diferentes, *Guazuma ulmifolia* y *Citrus* sp. Además, se identificaron varios metabolitos secundarios con actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa. El estudio *in vitro* presentó un efecto dependiente del hospedero siendo mejor el extracto recolectado de *Citrus* sp. El estudio *in vivo* mostró un efecto no dependiente del hospedero en el agudo, y dependiente de hospedero en el subcrónico indicando que los metabolitos presentes en los extractos presentan diferentes mecanismo de actividad antidiabética. Además, la administración del extracto por 20 semanas no tuvo efecto hepatotóxico. Lo que proporciona soporte científico al uso medicinal de *S. quercicola* para el tratamiento alternativo de la diabetes.

Palabras clave: *Struthanthus*, α -glucosidasa, diabetes, flavonoides, hepatoprotector.

ABSTRACT

Traditional medicine has many benefits for culture and society, besides being a source of natural products and compounds with important chemical, biological and industrial applications. These compounds represent a source for generating valuable drugs against various diseases such as diabetes mellitus (DM). Current treatments are not fully efficient and/or effective in the long term in reducing the pathogenesis or preventing disease progression. In addition, the drugs involved induce adverse effects with varying severity in the short and long term.

Many plants in Mexico have been reported with antidiabetic activity, some from the genus *Struthanthus*. These plants are hemiparasitic, and they are known as "mistletoes." In the Huasteca region of the state of San Luis Potosí in Mexico, a plant colloquially known as "secapalo" is used by traditional doctors to treat diabetes. This genus has few reported studies on its phytochemical components and biological activity.

In this work, the *in vitro* and *in vivo* antidiabetic activity of aqueous extracts of *S. quercicola* collected from two hosts, *Guazuma ulmifolia* and *Citrus* sp, were done. And secondary metabolites with inhibitory activity of the enzyme α -glucosidase were identified. The *in vitro* study presented a host-dependent effect, where the extract collected from *Citrus* sp. showed better activity. The *in vivo* studies showed a not host-dependent effect in the acute analysis and a host-dependent effect in the subchronic, indicating that the metabolites present in the extracts present different mechanisms of antidiabetic activity. In addition, the administration of the extract for 20 weeks had no hepatotoxic effect. These results support the medicinal use of *S. quercicola* for the alternative treatment of diabetes.

Keywords: *Struthanthus*, α -glucosidase, diabetes, flavonoids, hepatoprotective.

ÍNDICE

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 Diabetes mellitus..... | 1 |
| 1.2 Clasificación..... | 1 |
| 1.3 Epidemiología..... | 1 |
| 1.4 Fisiopatología, patogénesis y diagnóstico de Diabetes Mellitus Tipo II..... | 3 |
| 1.5 Tratamiento de Diabetes Mellitus Tipo II..... | 5 |
| 2. ANTECEDENTES | 9 |
| 2.1 Medicina tradicional..... | 9 |
| 2.2 Metabolitos secundarios con actividad antidiabética | 10 |
| 2.2.1 Plantas con actividad antidiabética en México | 11 |
| 2.2.2 Género <i>Struthanthus</i> Mart..... | 12 |
| 2.2.3 Mecanismos de acción antidiabética de los muérdagos..... | 14 |
| 3. JUSTIFICACIÓN..... | 16 |
| 4. HIPÓTESIS | 17 |
| 5. OBJETIVOS | 17 |
| 5.1 Objetivo general..... | 17 |
| 5.2 Objetivos particulares | 17 |
| 6. METODOLOGÍA..... | 18 |
| 6.1 Colecta del material vegetal..... | 18 |
| 6.2. Secado y molienda | 19 |
| 6.3 Obtención de los extractos acuosos..... | 19 |
| 6.4 Evaluación de la actividad antidiabética <i>in vitro</i> | 20 |
| 6.5 Evaluación de la actividad antidiabética <i>in vivo</i> | 22 |
| 6.5.1 Cálculo de la dosis experimental..... | 23 |
| 6.5.2 Evaluación del efecto agudo | 23 |
| 6.5.2.1 Efecto hipoglucemiante..... | 24 |
| 6.5.2.2 Efecto antihiper glucemiante | 24 |
| 6.5.2.3 Curvas de tolerancia | 25 |
| 6.5.3 Inducción de diabetes para la evaluación del efecto subcrónico | 25 |
| 6.5.4 Evaluación del efecto subcrónico..... | 27 |
| 6.5.5 Evaluación del efecto hepatotóxico | 28 |
| 6.6 Análisis estadístico | 30 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.7 Estudio fitoquímico | 30 |
| 6.7.1 Identificación de metabolitos secundarios con actividad antidiabética..... | 30 |
| 6.7.2 Extracción por maceración..... | 32 |
| 6.7.3 Extracción por percolación..... | 32 |
| 6.7.3.1 Fraccionamiento de la percolación MeOH por afinidad/miscibilidad | 32 |
| 6.7.4 Identificación de compuestos | 33 |
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 34 |
| 7.1 Actividad antidiabética <i>in vitro</i> | 34 |
| 7.2 Actividad antidiabética <i>in vivo</i> | 36 |
| 7.2.1 Efecto antidiabético agudo..... | 36 |
| 7.2.2 Efecto antidiabético subcrónico..... | 38 |
| 7.2.3 Evaluación de las concentraciones de colesterol y triglicéridos..... | 39 |
| 7.3 Evaluación del efecto hepatotóxico | 40 |
| 7.4 Identificación de metabolitos secundarios con actividad antidiabética | 42 |
| 7.4.1 Identificación por CG/EM | 43 |
| 7.4.2 Cuantificación por UHPLC | 43 |
| 7.4.3 Fraccionamiento de SQCPMeOH | 45 |
| 8. CONCLUSIÓN | 45 |
| 9. REFERENCIAS | 46 |
| ANEXO A | 54 |
| ANEXO B..... | 54 |
| GLOSARIO..... | 55 |

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Diabetes mellitus

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la Diabetes Mellitus (DM) como un desorden metabólico caracterizado por hiperglicemia crónica debido a alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas derivado de defectos en la secreción de insulina, en su acción, o en ambas. A largo plazo este desorden daña los tejidos del cuerpo, lo cual puede conducir a una discapacidad y a complicaciones de salud mortales (Yara S. Beyh, 2021).

1.2 Clasificación

En la actualidad la clasificación de la DM se basa en la etiología de la enfermedad, tomándose en cuenta la alteración de las células β como defecto primario y se reconoce la intervención de la genética. El Cuadro 1 presenta la clasificación aceptada por la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010 “para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en el territorio mexicano”(NOM-015-SSA2-2010, 2010).

1.3 Epidemiología

La DM es una condición crónica que es asociada con una serie de complicaciones que aumentan el riesgo de muerte prematura a nivel mundial. En 10 años la prevalencia de la diabetes ha aumentado en un 62 % en personas entre 20-79 años, dado que en el 2009 la cantidad de personas con diabetes fue de 285 millones y en 2019 se registraron 464 millones (9.3 %) (Saeedi *et al.*, 2019), para el 2021 se estimó una prevalencia de 10.5% (536.6 M de personas) y para el 2045 un 12.2% (783.2 M)(Hong Sun, 2022). La Diabetes Mellitus tipo II (DMTII) es la más recurrente (90 % de los casos) y se estima que la mitad de las personas con esta enfermedad no saben que la padecen (Zheng, Ley, & Hu, 2018).

Cuadro 1. Clasificación de la diabetes con base en su etiología
(NOM-015-SSA2-2010, 2010).

| Tipo de diabetes mellitus | Etiología |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo I (DMTI) | Mediada inmunitariamente e idiopática |
| Tipo II (DMTII) | Defectos en la secreción de insulina por el páncreas Defectos en la captación de insulina por las células. |
| Defectos genéticos en la función de las células beta, que comprende varias entidades. | Cromosoma 12, HNF-1 alfa (antes MODY 3). Cromosoma 7, glucocinasa (antes MODY 2). Cromosoma 20, HNF-4 alfa (antes MODY 1). Mutaciones puntiformes del DNA mitocondrial asociado a sordera. |
| Defectos genéticos en la acción de la insulina | Resistencia a la insulina tipo A, leprecaunismo., síndrome Rabson-Mendenhall, diabetes lipoatrófica |
| Enfermedades del páncreas exócrino. | Pancreatitis, trauma/pancreatectomía, neoplasia, fibrosis quística, hemocromatosis, pancreatopatía fibrocalculosa. |
| Endocrinopatías | Acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma e hipertiroidismo. |
| Diabetes inducida químicamente o por drogas. | Vacor, pentamidina, ácido nicotínico, glucocorticoides. hormonas tiroideas, diazóxido, agonistas beta-adrenérgicos y tiazidas. |
| Infecciones | Rubéola congénita y citomegalovirus. |
| Diabetes poco común mediada inmunitariamente. | Síndrome de "stiff-man" y anticuerpos contra el receptor de insulina. |
| Diabetes gestacional | El cuerpo de la madre no puede producir la insulina adicional que necesita durante el embarazo. |

En el 2016 la enfermedad DMTII fue declarada emergencia epidemiológica en México, ocupando el segundo lugar como causa de muerte entre los mexicanos y número uno en disminución de la calidad de vida (Basto-Abreu *et al.*, 2020). México es el sexto país con mayor prevalencia de DM en el mundo con 12.8 millones de afectados (Saeedi *et al.*, 2019).

1.4 Fisiopatología, patogénesis y diagnóstico de Diabetes Mellitus Tipo II

La ingestión de alimentos y su posterior absorción por el organismo desencadena una serie de mecanismos de homeóstasis, entre los que se encuentra la regulación de la tolerancia a glucosa a través de vías de señalización extracelulares. La hormona más conocida que lleva a cabo la acción de disminuir la concentración de glucosa sanguínea es la insulina. Este proceso comienza con la vía de señalización de moléculas que funcionan como mensajeros y participan en la homeostasia de la glucemia, regulando la secreción de insulina y glucagón de manera dependiente de la glucosa. Estas son denominadas incretinas y son dos las principales: la hormona polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa (*GIP, gastric inhibitory polypeptide*) que aumenta la producción de insulina en las células β del páncreas, y el péptido relacionado al glucagón tipo 1 (*GLP-1, glucagón like peptide-1*) que es una hormona que actúa sobre las células α del páncreas para aumentar la glucemia. Cuando los polímeros de glucosa son ingeridos y despolimerizados por la acción de las enzimas intestinales, los monómeros son llevados hacia el torrente sanguíneo por transportadores especializados (transportador de glucosa dependientes de sodio *SGLT* y proteínas facilitadoras del transporte de glucosa *GLUT*, por sus siglas en inglés), activando diversos procesos como almacenamiento de glucosa, utilización para los procesos anabólicos de las células en los tejidos, y secreción de *GIP* y *GLP-1* (Sangwung, Petersen, Shulman, & Knowles, 2020).

Las células β segregan insulina cuando su membrana es despolarizada por el aumento de ATP obtenido por el metabolismo de los carbohidratos (glucosa y fructosa), los cuales ingresan al citosol a través del transportador de glucosa (*GLUT*). La participación del *GLUT* en la secreción de insulina permite la regulación de la cantidad de insulina liberada, dado que sólo permite el transporte de carbohidratos cuando la concentración plasmática alcanza el umbral de afinidad con su sustrato. *GLUT 2* es expresado en el hígado, riñón, células β del páncreas y en la membrana basolateral de las células epiteliales del intestino delgado y *GLUT 4* en los miocitos y hepatocitos (Antonioli, Blandizzi, Csoka, Pacher, & Hasko, 2015). Cuando la glucosa está en

concentraciones elevadas, el hígado y el músculo esquelético almacenan glucosa a través de la síntesis de glucógeno por medio del proceso conocido como glucogénesis, y es ajustado por: gluconeogénesis, glucogenólisis y glucólisis, los cuales son regulados por la insulina, la concentración de glucosa sanguínea y las hormonas antes mencionadas (Mendes, Koetzner, & Chen, 2018).

Los pacientes con uno o varios factores de riesgo (obesidad, sedentarismo, predisposición genética, etc.) presentan un estado inicial de resistencia a la insulina que contribuye al aumento de la producción de glucosa hepática y disminuye su utilización en sus órganos blanco, forzando al organismo a regular su tolerancia a la glucosa aumentando la secreción de insulina. La hiperinsulinemia causa atrofia del páncreas por la disfunción en las células β y el deterioro de la vía de acción de las incretinas, por lo que se reduce la liberación de insulina evidenciando la fisiopatología de la enfermedad (Dong *et al.*, 2019).

Se ha demostrado que la resistencia a la insulina, en el músculo esquelético y en el hígado, es el resultado de un defecto en el transportador de glucosa dependiente de insulina (*GLUT 4*); esta disminución en la cascada de señalización de insulina es causada por el aumento de acil-CoA y diacilglicerol derivado de un desperfecto en el tejido adiposo (Virally *et al.*, 2007).

Por lo tanto, la patogénesis de la DM2 y su progresión son el resultado de varios factores entre los que se encuentran la generación de especies reactivas de oxígeno (*ROS*, por sus siglas en inglés), factores epigenéticos y la activación de varias rutas mediadas por citosinas proinflamatorias sintetizadas como respuesta al estrés oxidativo (Akash, Rehman, & Liaqat, 2018). Los mediadores proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral α (*TNF α*), la interleucina 6 (*IL-6*) y la adiponectina resistina causan inhibición de la estimulación del transporte de glucosa dependiente de insulina en sus órganos blanco (Samuel & Shulman, 2016). Se ha reportado que uno de los posibles fallos en la regulación en el tejido adiposo puede ser causado por defectos en la vía de señalización de los receptores de adenosina (*ATP*, *ADP* o *AMPc*); estas moléculas de señalización extracelular aumentan su concentración en situaciones de

estrés metabólico como es la presencia de ROS e inflamación y regulan la homeóstasis de las células β controlando su proliferación y regeneración en microambientes de estrés, por lo que esta vía de regulación mediada por adenosina ha demostrado tener un rol importante en la homeóstasis de la glucosa, en el mecanismo fisiopatológico y la progresión de la enfermedad (Halim & Halim, 2019).

En la actualidad se conoce que las personas con factores de riesgo para desarrollar DMII presentan un estado temprano de la enfermedad denominado prediabetes, que es caracterizado por concentraciones de glucosa sanguínea mayores a la normal pero menores a la establecida para DMII. Se diagnostica prediabetes cuando la glucosa en ayuno es igual o mayor a 100 mg/dl y menor o igual de 125 mg/dl (glucosa anormal en ayuno, GAA) y/o cuando la glucosa post-carga oral (dos horas) de 75 g de glucosa anhidra es igual o mayor a 140 mg/dl y menor o igual de 199 mg/dl (Intolerancia a la glucosa, ITG) (NOM-015-SSA2-2010, 2010). Estudios fisiopatológicos diversos han reportado que las irregularidades en GAA pueden ser causadas por defectos en la secreción de insulina e ITG y puede ser reflejo de la resistencia a la insulina (Balion *et al.*, 2007).

Los signos y síntomas relacionados con DMII son poliuria, polidipsia, polifagia, fatiga, resequead de la piel, visión borrosa y pérdida de peso, las cuales se deben a la pérdida de la regulación de las concentraciones de glucosa en sangre por la insulina. El diagnóstico es establecido cuando se cumple cualquiera de los criterios anteriormente mencionados y una glucemia plasmática casual ≥ 200 mg/dl; glucemia plasmática en ayuno ≥ 126 mg/dl; o bien glucemia ≥ 200 mg/dl a las dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua. En la prueba de GAA, ITG o en ausencia de síntomas inequívocos de hiperglucemia se deben confirmar los criterios repitiendo la prueba en un día diferente (NOM-015-SSA2-2010, 2010).

1.5 Tratamiento de Diabetes Mellitus Tipo II

Para el tratamiento de esta enfermedad es necesario un sinergismo entre el control de los factores de riesgo, los fármacos y la terapia con insulina, lo cual dependerá de la

condición del paciente y de su historial médico. Los hipoglucemiantes orales van dirigidos a corregir una o más de las alteraciones metabólicas subyacentes (Mogensen, 2007).

Uno de los tratamientos antidiabéticos más utilizados son los secretagogos como las sulfonilureas (glimepirida) y las glinidas (repaglinida) que, aunque no son de primera línea para los pacientes al inicio de la enfermedad, son utilizados en etapas subsecuentes. El mecanismo de acción de los secretagogos es a nivel de membrana de las células β , en la unidad proteica de canales de K^+ dependientes de ATP, que está conformada por cuatro subunidades formadoras de poro conocidas como *Kir* y una subunidad reguladora llamada *SURX* (dos subunidades *SUR-1* y *SUR-2*). Mientras que las sulfonilureas se unen al receptor específico *SUR-1*, las glinidas tienen dos sitios de unión, *SUR-1* y *Kir*. La unión de los fármacos a estos sitios promueve la disminución del eflujo del ion K^+ hacia el citosol lo que causa la despolarización de la membrana abriendo los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. El aumento intracelular del ion Ca^{2+} estimula la exocitosis de los gránulos de insulina (Lv, Wang, Xu, & Lu, 2020).

Los fármacos antidiabéticos que actúan a nivel de la vía de las incretinas son de dos clases, los miméticos de *GPL-1* (injectables) y los inhibidores de la *DPP-IV* (dipeptidil peptidasa IV). Los primeros son agonistas del receptor *GLP-1* en la membrana de las células β , activando un aumento en la producción de insulina y disminuyendo la liberación del glucagón por las células α , dos acciones estrictamente dependientes de glucosa. Los inhibidores de *DPP-IV* disminuyen la degradación de las hormonas incretinas (*GIP* y *GLP-1*) promoviendo su acción fisiológica, retardando el vaciado gástrico y reduciendo el consumo de alimentos (Filippatos, Panagiotopoulou, & Elisaf, 2014).

Para los sensibilizadores a la insulina también se tienen dos clases, las biguadinas, como la metformina, y las glitazonas o thiazolidinedionas, como la pioglitazona. El mecanismo de acción de la metformina no está completamente dilucidado, pero se sabe que interviene en la vía de señalización de la serina/treonina quinasa 11 (*LKB1*) y la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), responsables de la transcripción de

las enzimas involucradas en la gluconeogénesis hepática, causando su reducción. (Apostolova *et al.*, 2020). Las tiazolidinedionas actúan a nivel de núcleo celular, a través de la transactivación génica del receptor de peroxisomas-proliferador-activado gamma (*PPAR γ* por sus siglas en inglés), son agonistas del receptor de ácidos grasos libres tipo 1 (*FFA1*) mejor conocido como receptor acoplado a proteína G (*GPR40*) e inhibidores de la expresión de los genes que codifican para la aldosa reductasa (*ALR 2*), enzima importante en el desarrollo de complicaciones asociadas a DMTII en retina, riñón y nervios por la vía de los polioles (acumulación de sorbitol intracelular). Esta enzima también inhibe la expresión de la proteína tirosina fosfatasa 1B (*PTP1B*), implicada en la regulación negativa de la vía de las lectinas y la vía de señalización de la insulina, evitando la disfunción de los adipocitos y las células β , disminuyendo la acumulación de lípidos ectópicos (Nanjan, Mohammed, Prashantha Kumar, & Chandrasekar, 2018).

Los inhibidores de la enzima α -glucosidasa son acarbosa, miglitol y voglibosa; los tres son inhibidores competitivos y evitan que la enzima lleve a cabo la función de obtener monómeros de glucosa para su absorción a torrente sanguíneo, logrando disminuir los niveles de glucosa posprandial y las concentraciones de glucosa basal (Henefeld, 2007).

Otra clase de fármaco antidiabético de recién introducción son los inhibidores del transportador de glucosa dependiente de sodio tipo II (*I-SGLT2*); el mecanismo de acción de estos fármacos ocurre a nivel de la membrana del túbulo proximal en la nefrona, donde los *I-SGLT2* inhiben la reabsorción de la glucosa por *SGLT2*, facilitando su excreción a través de la orina, disminuyendo la concentración de la glucosa (Kalra, 2014).

Otros tratamientos antidiabéticos utilizan preparados de insulina humana o con análogos recombinantes de insulina; estos últimos tienen cambios en su estructura que mejoran su farmacocinética y farmacodinamia. Los preparados de insulina de acción rápida logran conseguir un menor pico de glucemia postprandial con un menor riesgo de hipoglucemia postprandial tardía. Inyectados por vía subcutánea los

preparados de insulina regular de acción rápida tardan ca 30 minutos en iniciar su acción, el pico de la acción se alcanza a las 2-4 horas y la duración es de unas 6 a 8 h, en tanto que los análogos tienen un inicio de la acción a los 5-15 minutos, con pico de acción a 0.5-2 h y duración de la acción de unas 3-5 h. Las insulinas de acción intermedia (insulina, *NPH* e insulina lispro/protamina, *NPL*) tienen un inicio de la acción a las 1-2 h, con pico de acción a las 4-10 h y duración de unas 10-18 h. Las insulinas premezcladas consisten en insulina *NPH* o *NPL* premezcladas en combinaciones fijas con insulina humana regular o con un análogo de la insulina de acción rápida. Los análogos de insulina de acción prolongada se desarrollaron con el objetivo de mimetizar el perfil fisiológico de la insulinemia basal endógena, que no reproduce la *NPH*; buscando conseguir una duración igual o superior a 24 h, con menor variabilidad de absorción y sin pico de acción. Estas características les confieren menor riesgo de hipoglucemia en general y especialmente nocturna (Carreras & Pérez, 2016).

En la actualidad los tratamientos farmacológicos para DMTII son utilizados de manera combinada. La farmacoterapia combinada y la insulino terapia son ineficaces a largo plazo para mantener la homeóstasis glucémica y expone al paciente a posibles efectos secundarios como hipoglucemia y aumento de peso. Lo anterior explica la intensiva búsqueda de principios activos con nuevos mecanismos de acción para preservar la función de las células β , combatir la resistencia a la insulina en sus tejidos blanco y prevenir la progresión de la enfermedad a sus complicaciones relacionadas. Las plantas medicinales ofrecen tratamientos alternativos para enfermedades crónico-degenerativas como es DMTII y es una fuente importante de nuevos fármacos (Chehri *et al.*, 2022).

En el Cuadro 2 se muestra resumida la acción farmacológica de diferentes clases de fármacos antidiabéticos y sus principales efectos adversos.

Cuadro 2. Principales fármacos utilizados para el tratamiento de la DMTII
(Goedeke, 2019).

| Clase | Fármaco | Acción farmacológica | Efectos adversos |
|------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Secretores de insulina | Glimepirida Repaglinida | Aumentan la secreción de insulina | Hipoglucemia severa |
| Miméticos de GLP-1 | Liraglutida (Análogo) Exanatida (Agonista) | Promueven la acción de las incretinas | Pancreatitis, cancerígenos |
| I-DPP-IV | Sitagliptina Vildagliptina | Inhiben la degradación de las incretinas, retardan el vaciado gástrico y reducen el apetito. | |
| Sensibilizadores de insulina | Metformina | Reduce la glucosa hepática vía LKB1 y aumenta la sensibilidad a la insulina vía AMPK | Acidosis láctica |
| | Pioglitazona | Aumenta la sensibilidad a la insulina vía PPAR γ | Hepatotóxico, cancerígeno |
| I- α -glu. | Acarbosa Voglibosa | Inhibe la absorción de glucosa | Diarreas, meteorismo |
| I-SGLT2 | Canagliflozina Empagliflozina | Aumentan la excreción de glucosa por la orina evitando su reabsorción. | Cetoacidosis Infecciones |
| Insulina | Regular Análogos Recombinantes | Disminuye la glucosa hepática, aumenta la utilización de glucosa | Hipoglicemia Aumento de peso |

I- α -glu = Inhibidores de la α -glucosidasa, I-DPP-IV = Inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV. I-SGLT= Inhibidor del transportador de glucosa dependiente de Na⁺ tipo II, PPAR γ = receptor de peroxisomas-proliferador-activado gamma, LKB1= serina/treonina quinasa 11, AMPK= proteína quinasa activada por AMP.

2. ANTECEDENTES

2.1 Medicina tradicional

La medicina tradicional se define como el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias de diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (Osadebe, Odoh, & Uzor, 2014).

La efectividad de la medicina tradicional es debida a los diferentes metabolitos secundarios bioactivos que contienen las fuentes naturales empleadas. Por ejemplo, las plantas sintetizan compuestos fenólicos para protegerse del estrés biótico y abiótico, estos compuestos son igualmente efectivos para combatir los efectos de las enfermedades crónicas ligadas al estrés oxidativo (Asmat, Abad, & Ismail, 2016). Existen evidencias científicas que muestran que el estudio de las plantas medicinales es de gran relevancia. Muchos de los principios activos que se usan en la formulación de medicamentos de patente fueron extraídos de plantas y son, en algunos casos, su fuente principal. Algunos ejemplos importantes son la metformina, biguanidina aislada de la *Galega officinalis*, los antibióticos ceftolozane/tazobactam y el alcaloide fluorado derivado sintético de la vinca, vinflunine, por mencionar algunos. En los últimos años se han publicado artículos en los cuales se enfatiza que los metabolitos secundarios de fuentes naturales y/o sus estructuras han desempeñado un rol importante en el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos, en la Figura 1 se muestra el porcentaje de medicamentos procedentes de fuentes naturales, ya sean derivados o miméticos en el periodo de 1981-2019 (Newman & Cragg, 2020).

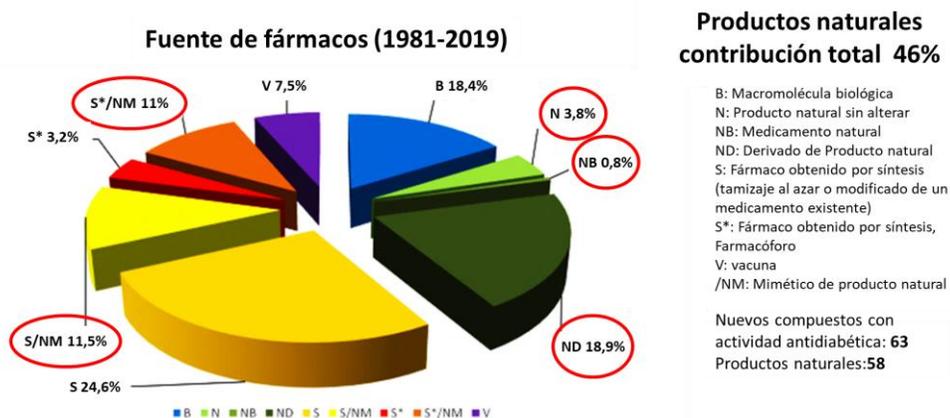


Figura 1. Porcentaje de fármacos procedentes de fuentes naturales.

2.2 Metabolitos secundarios con actividad antidiabética

Como se ha mencionado anteriormente, la patología de DMTII es bien conocida y se ha demostrado el papel del estrés oxidativo en el desarrollo de las complicaciones causadas por esta enfermedad (Asmat *et al.*, 2016). La actividad antioxidante y antidiabética son

propiedades que presentan varias clases de metabolitos secundarios encontrados en plantas medicinales. Entre estos están los esteroides y los alcaloides que disminuyen la actividad de las enzimas glucogénicas; los triterpenos y alcaloides que aumentan la utilización de glucosa y disminuyen la incidencia, progresión y complicaciones causadas por la hiperglucemia crónica; los taninos que son conocidos por ser inhibidores de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa (Xu, Li, Dai, & Peng, 2018). En el Cuadro 3 se resumen algunas de las acciones farmacológicas con efecto antidiabético de algunos metabolitos secundarios.

Cuadro 3. Actividad antidiabética de los metabolitos secundarios (Xu *et al.*, 2018)

| Metabolito secundario | Acción antidiabética |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Esteroides | Disminuyen la gluconeogénesis y glucogénesis (inhiben a la Glc-6-fosfatasa) |
| Triterpenos | Aumentan la sensibilidad a la insulina, inhibidores de α -glucosidasa. |
| Polifenoles | Aumentan las concentraciones de <i>GLP-1</i> y promueven la vía de señalización de la insulina, inhiben a <i>GLUT</i> y <i>SGLT</i> , reducen el estrés oxidativo. |
| Flavonoides | Disminuyen la incidencia, la progresión y las complicaciones causadas por la hiperglucemia crónica. Aumentan la utilización de glucosa. Inhibidores de α -glucosidasa y α -amilasa. Promueven la función correcta de las células β del páncreas. |
| Taninos | Inhibidores de α -glucosidasa y α -amilasa |
| Alcaloides | Disminuyen la actividad de las enzimas glucogénicas y aumentan la utilización de glucosa, también aumentan la vía de señalización de la insulina. |

2.2.1 Plantas con actividad antidiabética en México

Existe una gran cantidad de estudios que demuestran que en México existen más de 500 especies de plantas utilizadas para el tratamiento de DMTII, siendo las familias más comunes: Asteraceae, Fabaceae, Cactaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, y Lamiaceae (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). En un estudio realizado en Aquismón, municipio de la Huasteca Potosina, se encontró que, de las 73 plantas con uso medicinal, 10 eran utilizadas para el control de DMTII. Una de las especies utilizadas

con este fin es *Struthanthus densiflorus*, perteneciente a un género con escasos estudios científicos y de fitoquímica desconocida (Josabad Alonso-Castro *et al.*, 2012).

2.2.2 Género *Struthanthus* Mart.

Las especies del género *Struthanthus* Mart., también denominadas muérdagos, son plantas herbáceas, epífitas, escandentes, foliadas, con tallos cilíndricos o cuadrangulares y dioicas. Las inflorescencias se producen en forma de espigas o racimos de tríadas apareadas. El fruto es una baya naranja, rojiza o azul; las semillas con endosperma copioso y el embrión de color verde brillante. Los muérdagos de este género también son conocidos como “injertos” o “secapalos”; son plantas hemiparásitas de la familia Loranthaceae muy abundantes e importantes en el país; llegan a afectar importantes extensiones de arbolado, mermando la producción de conos y semillas, así como el crecimiento de los árboles en diámetro, altura y volumen. El sistema endofítico de este género invade el sistema vascular del hospedero y regenera brotes de nuevas yemas procedentes del endófito (Vázquez Collazo, 2006). La fitoquímica del género *Struthanthus* es prácticamente desconocida; sólo se han reportado clases de metabolitos secundarios por métodos de identificación cualitativos, reportándose alcaloides, saponinas, esteroides y triterpenos, taninos condensados, flavonoides y catequinas. Hasta la fecha sólo se han sido aislados siete metabolitos secundarios: estigmasterol (1), sitosterol (2), lupeol (3), β -amirina (4), taraxasterol (5), taraxerol (6) y rutina (7). Las estructuras químicas de los compuestos antes mencionados se muestran en la Figura 2 (Leitão, de Lima Moreira, de Almeida, & Guimarães Leitão, 2013).

Las especies del género *Struthanthus* presentan diversas actividades biológicas; se ha reportado que el extracto hidroalcohólico de *S. vulgaris* contiene flavonoides, taninos y saponinas con actividad antimicrobiana, antioxidante y cicatrizante (Vittorazzi, Endringer, Andrade, Scherer, & Fronza, 2016); otro estudio reporta actividad antiinflamatoria, pero no se identificaron los metabolitos secundarios responsables de dicha actividad (Dos Santos Gramma *et al.*, 2016).

(Marte *et al.*, 2018). En cuanto a la actividad antidiabética de la especie *S. subtilis* se reporta que es debida al flavonoide conocido como rutina (**7**), cuya estructura se muestra en la Figura 2C. Este metabolito es un inhibidor de la actividad de la enzima α -glucosidasa (CI_{50} de 0.182 mmol/L) y la actividad del transportador de glucosa (SGLT 1) en el intestino (Li, 2009), y se ha evaluado su capacidad de estimular la captación de glucosa, aumentando la secreción de insulina (Brahmachari, 2011). En el Cuadro 4, se muestra un resumen de metabolitos secundarios identificados como responsables de las actividades biológicas reportadas en las especies del género *Struthanthus*.

Cuadro 4. Actividad biológica de metabolitos secundarios de especies del género *Struthanthus*.

| Especie | Actividad biológica | Metabolito secundario | Estudio |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------|
| <i>S. vulgaris</i> | Antioxidante Antimicrobiana Antiinflamatoria Cicatrizante | Flavonoides, taninos, saponinas | <i>In vitro</i> |
| <i>S. marginatus</i> | Antiulcerosa, | Flavonoides | |
| | Antituberculosa | | |
| <i>S. concinnus</i> | | Esteroles y terpenoides | |
| <i>S. palmeri</i> | Antioxidante | Flavonoides | |
| | Antiproliferativa | | |
| <i>S. venetus</i> | | Polifenoles | <i>In vivo</i> |
| | Antihipertensiva | | |
| <i>S. subtilis</i> | Antidiabética | Flavonoide | |

2.2.3 Mecanismos de acción antidiabética de los muérdagos

Los mecanismos de acción antidiabética conocidos de los muérdagos son los siguientes: incrementan la secreción de insulina y su precursor C-péptido; promueven la unión de la insulina a su receptor Tirosina-cinasa (*RTK* por sus siglas en inglés), lo que aumenta la fosforilación de la proteína *IRS-1* activadora de *PI3K*, convirtiendo *PIP2* a *PIP3*, esto activa la fosforilación de *AKT* vía *PDK1* causando la traslocación del

transportador *GLUT4* a la membrana de las células promoviendo la utilización de glucosa (Park, Kim, Kim, Park, & Song, 2019). Otro mecanismo conocido es la regulación de la transcripción de los genes de insulina mediado a través de las rutas *PI3K* y *ERK1/2*, promovidas por la activación de los factores de transcripción *PDX-1* y *beta2* (neuroD) (Ko, Kang, Moon, Ryuk, & Park, 2016). Los muérdagos tienen efecto sobre los niveles de glucosa postprandial inhibiendo la actividad de la enzima α -glucosidasa, evitando la digestión y adsorción de glucosa (Onal, Timur, Okutucu, & Zihnioglu, 2005; Park *et al.*, 2019). Estos mecanismos de acción se muestran en la Figura 3.

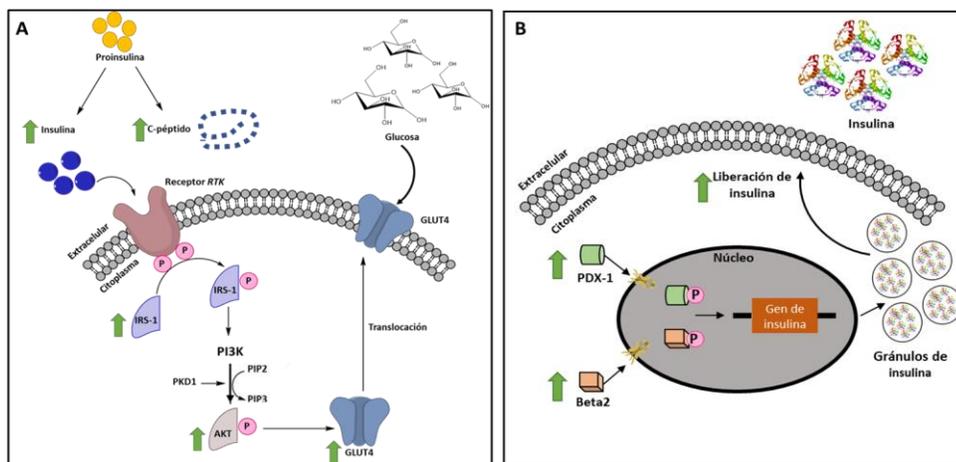


Figura 3. Mecanismos de acción antidiabética conocidos de los muérdagos.

3. JUSTIFICACIÓN

La Diabetes mellitus (DM) es un problema de salud a nivel mundial, cuya heterogeneidad clínica en los pacientes a causado que en la actualidad se opte por una farmacoterapia combinada, la cual a largo plazo es inefectiva, porque no frena el impacto fisiopatológico de la DM, causando que los pacientes padezcan complicaciones físicas, mala calidad de vida e incluso la muerte prematura. Lo que requiere la búsqueda de alternativas terapéuticas, siendo la medicina tradicional una opción ya que utiliza plantas con diversas propiedades biológicas, entre ellas antidiabética. Los muérdagos son especies vegetales ampliamente usadas con fines religiosos o medicinales en el mundo. En la Huasteca Potosina, el “secapalo”, planta del género *Struthanthus*, es utilizada por médicos tradicionales para tratar la diabetes. El género cuenta con pocos estudios sobre sus componentes fitoquímicos, en la literatura se reportan principalmente triterpenos y compuestos fenólicos. Por otra parte, existen algunos reportes de actividad biológica del género *Struthanthus*, entre ellas propiedades antidiabéticas. Al ser una planta hemiparásita sus propiedades biológicas y fitoquímica puede variar dependiendo del hospedero, por lo que un estudio químico biológico de las plantas utilizadas en la Huasteca Potosina por los médicos tradicionales permitirá corroborar la actividad antidiabética de los extractos acuosos, su toxicidad y perfil fitoquímico.

4. HIPÓTESIS

La especie *Struthanthus quercicola* (secapalo) contiene uno o varios metabolitos secundarios con actividad antidiabética.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Estudiar el efecto antidiabético y la toxicidad de los extractos acuosos de *Struthanthus quercicola* colectada de *Guazuma ulmifolia* y *Citrus* sp.

5.2 Objetivos particulares

1. Evaluar la actividad inhibitoria de los extractos de la especie *S. quercicola* en la enzima α -glucosidasa
2. Evaluar la actividad antidiabética de la especie *S. quercicola* en ratas *Wistar* estableciendo un modelo para el efecto antidiabético agudo y otro para el efecto subcrónico.
3. Examinar el efecto hepatotóxico de la especie *S. quercicola* en ratas *Wistar*.
4. Identificar uno o varios metabolitos secundarios con actividad antidiabética.

6. METODOLOGÍA

En la Figura 4 se muestra el diagrama general de los métodos a seguir para el cumplimiento de los objetivos planteados.

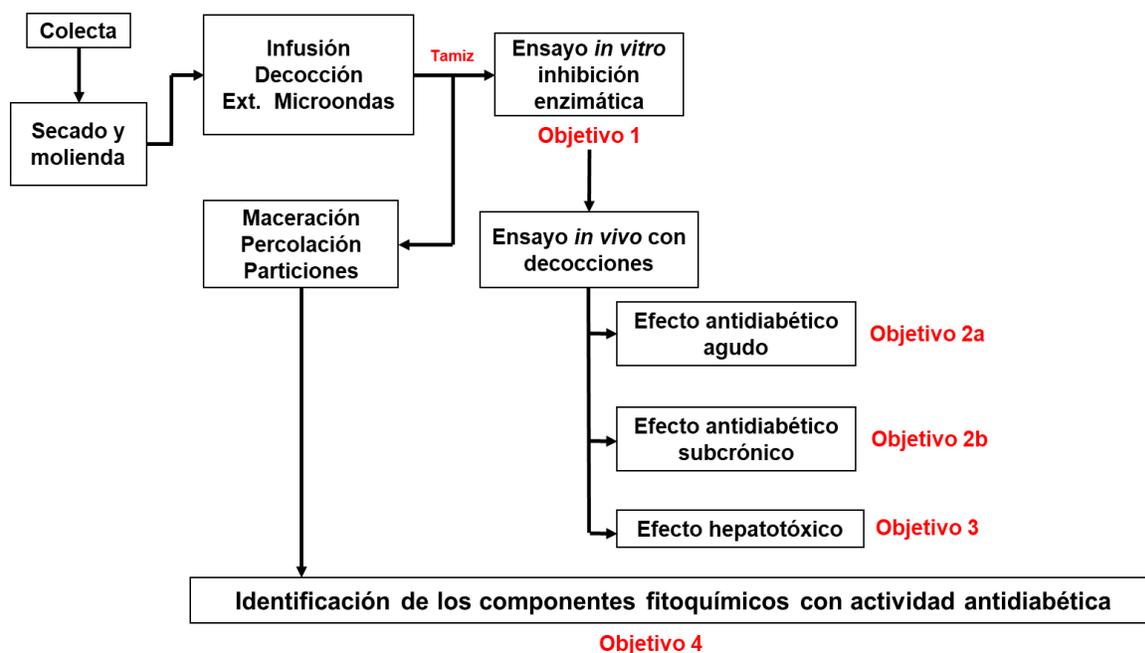


Figura 4. Diagrama general de trabajo

6.1 Colecta del material vegetal

La muestra vegetal se colectó de dos hospederos diferentes el 27 y 28 de febrero de 2018 en Enramaditas, Tamazunchale S.L.P. Se colectó material de un individuo hospedado en *Citrus* sp (SQC), en tanto que en la Garita Tambaque, Aquismón S.L.P. se colectó material de un individuo hospedado en *Guazuma ulmifolia* (SQG).

La planta denominada de manera coloquial como “secapalo” fue identificada en el Herbario “Isidro Palacios” del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas UASLP, por el taxónomo, Biól. José García Pérez. En el Cuadro 5 se muestra la clasificación taxonómica y su número de registro (Voucher).

Cuadro 5. Clasificación taxonómica de *Struthanthus quercicola*

| | |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Reino | Plantae |
| Filo | Magnoliophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Orden | Santalales |
| Familia | Loranthaceae |
| Género | <i>Struthanthus</i> |
| Especie | <i>Struthanthus quercicola</i> (Schltdl. & Cham.) Blume |
| Denominación común | <i>Secapalo</i> |
| # Voucher | 56112 recolectada de <i>Citrus</i> sp 56113 recolectada de <i>Guazuma ulmifolia</i> |

6.2. Secado y molienda

El material vegetal se extendió y secó al resguardo del sol en una habitación con ventilación natural, para la molienda y pulverización se emplearon varios métodos de molienda haciendo uso de un molino mecánico y de forma manual (malla 2 mm).

5.3 Obtención de los extractos acuosos

Todas las extracciones se llevaron a cabo con 200 g de cada planta molida y pulverizada de cada hospedero con tres repeticiones. Para la extracción por decocción, el material vegetal fue colocado en un vaso de precipitado de 1 L, se llevaron a ebullición con 800 mL de agua destilada durante 20 min. La extracción por infusión se llevó a cabo con filtros para café, donde se colocaron las muestras vegetales por 20 min en 800 mL de agua destilada caliente. Para la extracción por microondas se colocó el material vegetal (20 g/50 ml) en tubos de Teflón para microondas y se les añadió agua destilada, se colocaron dentro de un reactor Mars 6 (marca CEM) con la siguiente programación: potencia 350 W, temperatura 50 °C, rampa 10 min, *temp guard* 190 °C, presión 200 Pa, tiempo 20 min.

Los extractos se enfriaron a temperatura ambiente y se filtraron (Whatman, Ø = 125 mm. Con ayuda de un evaporador rotatorio (Büchi, MR-3) se redujo el volumen hasta

200 mL, los cuales se fraccionaron en alícuotas de 15 mL que posteriormente se liofilizaron y almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. En el Cuadro 6 se muestran los rendimientos y claves de los extractos acuosos obtenidos de la muestra vegetal de cada hospedero.

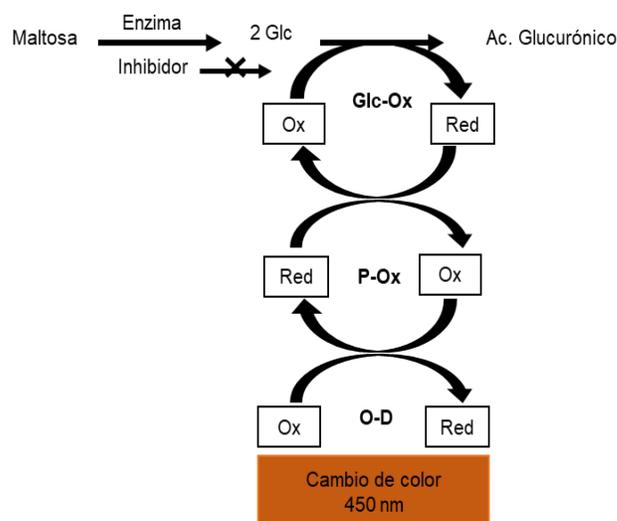
Cuadro 6. Extractos acuosos de *S. quercicola*

| <i>Struthanthus quercicola</i> (SQ) | | <i>Guazuma ulmifolia</i> Hospedero 1 (G) | | <i>Citrus sp.</i> Hospedero 2 (C) | |
|------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------------|------------------------|
| Extracto | Código | Peso (g) | Rendimiento (%) | Peso (g) | Rendimiento (%) |
| Decocción | D | 10 | 5 | 26 | 13 |
| Infusión | I | 36 | 18 | 32 | 16 |
| Microondas | MW | 24 | 12 | 22 | 11 |

6.4 Evaluación de la actividad antidiabética *in vitro*

Para evaluar la actividad antidiabética *in vitro* de los extractos acuosos se llevó a cabo la determinación de su porcentaje de inhibición y cálculo de la concentración inhibitoria media (CI_{50} , por sus siglas en inglés) en la *Spliceforma* de la enzima denominada N20-ctMGAM (α -glucosidasa), que fue obtenida del intestino de ratón y expresada en un sistema de vector *baculovirus* infectando células Sf9.

La determinación de la actividad enzimática se realizó en una placa de 96 pozos, en la que se relacionó la concentración de glucosa liberada del sustrato con la actividad enzimática, mediante el ensayo TGO (tris-glucosa-oxidasa) (Figura 5). La inhibición de la actividad enzimática de N20 se estableció como una disminución de la producción de glucosa en presencia del inhibidor.



Glc: glucosa, Ox: oxidación, Red: reducción
 Glc-Ox: glucosa oxidasa, P-Ox: peroxidasa, O-D: O-Dianosidina

Figura 5. Reacción en la medición de la actividad enzimática con el método TGO.

Para la determinación de la concentración inhibitoria media (CI_{50}), la mezcla de reacción consistió en 10 μ L de sustrato (50 mM de maltosa) diluida en buffer de fosfatos (PBS), al que se le añadieron 10 μ L del extracto y 10 μ L de la enzima N20-ctMGAM (dilución de enzima 5 mg/mL de 1:10 v/v en PBS). La reacción se cubrió con papel aluminio y se incubó a 37 °C por 60 min. Después se paró la reacción enzimática adicionando 200 μ L de disolución TGO. Luego se incubó otra vez la mezcla a 37 °C por 60 min. La concentración de glucosa producida por la actividad enzimática en presencia del inhibidor se midió en un lector de microplacas *UV-Vis* (Sinergy H Y20003642T marca BioTek) a 450 nm, con la ecuación de la curva $Y = 0.002x + 0.0873$, $r^2 = 0.9998$. Todas las reacciones se realizaron por triplicado con tres repeticiones, la acarbosa fue utilizada como fármaco de referencia y control positivo de inhibición, el control negativo de inhibición constó de todos los componentes antes mencionados excepto el inhibidor, también se incluyó un control de matriz (PBS y el extracto evaluado) a todas las concentraciones estudiadas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Concentraciones utilizadas en la determinación de CI₅₀.

| <i>Struthanthus quercicola</i> (SQ) | Concentración [$\mu\text{g/mL}$] |
|-------------------------------------|------------------------------------|
| Extracto | |
| I | 100, 300, 500, 700, 1000 |
| D | 10, 30, 50, 70, 100 |
| MW | |
| Acarbosa | 100, 300, 500, 700, 1000 |

El porcentaje de inhibición fue calculado usando la Ecuación 1, donde A0 es la absorbancia del control negativo, A1 es la absorbancia de cada una de las muestras evaluadas. La CI₅₀ fue obtenida a través de una regresión no lineal usando el método de la función logística de cuatro parámetros (Ecuación 2) y se expresó en $\mu\text{g/mL}$, el parámetro 10x-LogC es el punto de inflexión y su despeje en la ecuación es la estimación del CI₅₀.

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

$$Y = D + \frac{(A - D)}{1 + 10^{x - \text{Log}CB}} \quad (2)$$

6.5 Evaluación de la actividad antidiabética *in vivo*

La actividad antidiabética de la especie *S. quercicola* en ratas *Wistar* se examinó mediante dos modelos de estudio, el primero fue la evaluación del efecto antidiabético agudo de los extractos SQGD y SQCD en ratas *Wistar* euglicémicas, posteriormente se evaluó el efecto antidiabético subcrónico llevado a cabo con las mismas ratas euglicémicas y con ratas diabéticas.

El estudio se realizó con 45 unidades experimentales que consistieron en ratas *Wistar* macho, con un peso de 200 ± 50 g, obtenidas en el bioterio del Centro de Bociencias de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Los biomodelos se mantuvieron en cajas individuales, con ciclo de luz-oscuridad invertido, condiciones controladas de temperatura, humedad y limpieza continua. En la primera y segunda semana se llevó

a cabo el acondicionamiento al ambiente del cuarto de confinamiento, con alimento (Formulab Chow 5008) y agua *ad libitum*. Se siguieron los lineamientos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (SEGOB, 2001). La evaluación de los efectos agudo y subcrónico se llevó a cabo mediante un diseño experimental completamente al azar. El protocolo fue aprobado por el comité de ética en investigación de la facultad de enfermería y nutrición de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con el número de registro **CEIFE-2020-330**.

6.5.1 Cálculo de la dosis experimental

La médico tradicional del municipio de Aquismón, S.L.P., la Sra. Martina Chaires, recomienda a sus pacientes hervir tres varas (planta completa) de “secapalo” de 15 cm de largo en 1 L de agua por 20 min (decocción) y tomar como agua de uso. Considerando esto se estableció la dosis que se usó en todos los experimentos.

Primero, se obtuvieron los pesos de 70 varas de 15 cm de la planta completa, resultando un peso promedio por vara de 0.8 g, siguiendo la recomendación (hervir tres varas) el peso promedio resultó en 2.4 g de planta completa para un individuo de aproximadamente 65 kg de peso corporal, obteniéndose una dosis de 37 mg de planta seca/kg de peso y 5 mg/kg de extracto liofilizado.

La administración en el biomodelo se llevó a cabo usando las alícuotas liofilizadas, las cuales fueron disueltas para obtener las concentraciones previamente calculadas usando el peso corporal de cada animal y la dosis tradicional de 5 mg/ml/kg.

6.5.2 Evaluación del efecto agudo

Para la evaluación del efecto agudo se determinó el efecto hipoglucemiante y antihiperoglucemiante de las decocciones de *S. quercicola* recolectada de *G. ulmifolia* (SQG) y de *Citrus* sp. (SQC) determinados a través de curvas de tolerancia a carbohidratos.

6.5.2.1 Efecto hipoglucemiante

El efecto hipoglucemiante fue determinado mediante la administración de glucosa disuelta en agua destilada y los siguientes cinco tratamientos: blanco (agua), metformina (Glucophage® 500 mg) en una dosis de 150 mg/kg (Clouatre, 2011), glimepirida (Amaryl® 2 mg) en una dosis de 0.8 mg/kg (Kamble, 2016), decocción de *S. quercicola* recolectada de *G. ulmifolia* (SQGD) y decocción de *S. quercicola* recolectada de *Citrus* sp. (SQCD) en una dosis de 5 mg de liofilizado de material vegetal /mL/kg de peso (Figura 5).

6.5.2.2 Efecto antihyperglucemiante

En el caso de este efecto, se administró maltosa y cuatro tratamientos: blanco (agua), acarbosa (Precose® 25 mg) a 20 mg/kg (Kumar *et al.*, 2022) y las decocciones SQGD y SQCD en dosis de 5 mg/ml/kg (Figura 6).

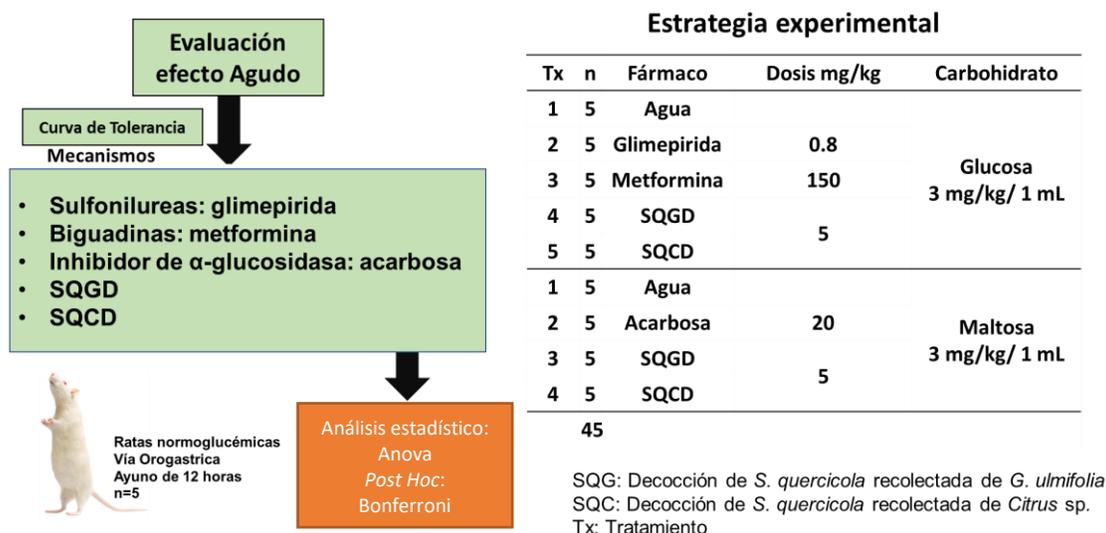


Figura 6. Procedimiento experimental de la evaluación del efecto agudo.

6.5.2.3 Curvas de tolerancia

Se realizaron curvas de tolerancia a glucosa y a maltosa, las cuales son estudios clínicos rápidos para la medición de los niveles de glucosa en sangre. Las unidades experimentales se dejaron en ayuno de alimento durante 12 h. Se midió la glucosa basal, y en seguida se administró, por vía orogástrica, una carga de glucosa o maltosa (de acuerdo con el efecto estudiado). La concentración fue calculada mediante una dosis de 3 mg/g de peso para cada unidad experimental. El tratamiento (fármaco de referencia, decocción o agua) se administró 5 min después de la administración del carbohidrato. Posteriormente se midieron las concentraciones de glucosa cada 30 min durante 2 h (30, 60, 90 y 120 min) con un glucómetro y tiras reactivas marca Accu-Chek® (Ovalle-Magallanes, Medina-Campos, Pedraza-Chaverri, & Mata, 2015). El procedimiento experimental se muestra en la Figura 7.



Figura 7. Evaluación del efecto agudo mediante curvas de tolerancia en ayuno.

6.5.3 Inducción de diabetes para la evaluación del efecto subcrónico

A la mitad de las unidades experimentales se les indujo diabetes química mediante la inyección intraperitoneal de 50 mg/kg de estreptozotocina (Sigma-Aldrich®) disueltos en 100 mM de buffer de citrato a pH de 4.5. El criterio de inclusión al grupo experimental diabético fue la confirmación del estado diabético de los animales de experimentación, la concentración de glucosa en sangre mayor o igual a 400 mg/dL después de 48 h de la inducción química de diabetes. Para simular la fisiopatología de DM2 en el modelo, se les administró insulina isófana de acción intermedia (Humilin N®

100 UI). El ajuste de la dosis de insulina para cada unidad experimental fue llevado a cabo mediante la cuantificación de glucosa sanguínea cada 12 h después de la administración de insulina, hasta estandarizar la dosis para cada unidad experimental. En el cuadro 8 se muestran las concentraciones de glucosa por rata durante el proceso de estandarización de la dosis de insulina. Durante cinco días, antes de iniciar la administración de las decocciones, se determinó la glicemia de cada unidad experimental cada 24 h y hasta obtener concentraciones de glicemia entre >200 mg/dL pero <350 mg/dL (Figura 8).

Cuadro 8. Curva de glucosa para la determinación de la dosis de insulina, glicemia > 200 mg/dL pero < 350 mg/dL en ratas con diabetes inducida por STZ.

| | h | dosis | h | dosis | h | dosis | h | dosis | h |
|--------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|
| # Rata | 0 | insulina (UI/kg) | 12 | insulina (UI/kg) | 24 | insulina (UI/kg) | 36 | insulina (UI/kg) | 48 |
| 1 | 462 | 1 | 402 | 1,5 | 343 | 2 | 368 | 2 | 342 |
| 2 | 309 | 0,5 | 223 | 1 | 241 | 1 | 245 | 1 | 297 |
| 3 | 430 | 1 | 248 | 1 | 225 | 1 | 243 | 1 | 264 |
| 4 | 420 | 1 | 229 | 1 | 209 | 1 | 238 | 1 | 263 |
| 5 | 459 | 1 | 261 | 1 | 278 | 1 | 257 | 1 | 294 |
| 6 | 437 | 1 | 304 | 1 | 256 | 1 | 239 | 1 | 251 |
| 7 | 508 | 1 | 460 | 1,5 | 348 | 1,5 | 269 | 1,5 | 300 |
| 8 | 416 | 1 | 313 | 1,5 | 264 | 1,5 | 297 | 1,5 | 320 |
| 9 | 446 | 1 | 321 | 1,5 | 257 | 1,5 | 315 | 1,5 | 350 |
| 10 | 449 | 1 | 319 | 1,5 | 269 | 1,5 | 321 | 1,5 | 338 |
| 11 | 448 | 1 | 255 | 1 | 261 | 1 | 262 | 1 | 286 |
| 12 | 445 | 1 | 286 | 1 | 274 | 1 | 271 | 1 | 264 |
| 13 | 317 | 0,5 | 256 | 1 | 238 | 1 | 256 | 1 | 241 |
| 14 | 323 | 1 | 301 | 1 | 291 | 1 | 301 | 1 | 285 |
| 15 | 368 | 1 | 300 | 1 | 305 | 1 | 300 | 1 | 269 |
| 16 | 373 | 1 | 327 | 1,5 | 246 | 1,5 | 327 | 1 | 287 |
| 17 | 365 | 1 | 269 | 1 | 274 | 1 | 269 | 1 | 267 |
| 18 | 376 | 1 | 277 | 1 | 300 | 1 | 277 | 1 | 293 |

h= horas, STZ= estreptozotocina.

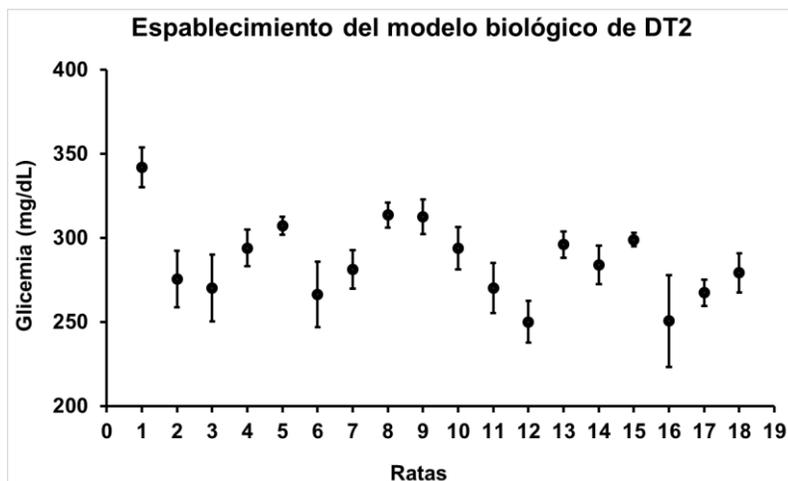


Figura 8. Establecimiento del modelo biológico de DMTII en ratas con diabetes inducida por STZ, que constó de glicemia > 200 mg/dL, pero < 350 mg/dl determinado cada 24 h sin variación significativa. Los datos en la gráfica se presentan como la media \pm E.E.M, n= 3, $P<0.05$. Se utilizaron para el análisis estadístico la prueba Anova de dos vías y la prueba *post Hoc* de Bonferroni.

6.5.4 Evaluación del efecto subcrónico

En estudios previos realizados en ratas *Wistar* se reportó que la hiperglicemia crónica causa estrés oxidativo, lo que genera inflamación vía decremento de la IL-10 e incremento de NF- κ B, lo cual activa la producción de IL-6 e TGN- α , causando dislipidemia y daño hepático (Khanra *et al.*, 2015; Mittal, Siddiqui, Tran, Reddy, & Malik, 2014). Por este motivo la evaluación del efecto subcrónico constó del análisis de las pruebas de bioquímica sanguínea, mediante la determinación de los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol en suero sanguíneo, al igual que, semanalmente fue registrado el peso corporal de cada unidad experimental y su consumo de alimento, para evaluar el estado físico de las ratas y de igual manera los signos y síntomas de la diabetes, como la polifagia (Bello-Chavolla, Rojas-Martinez, Aguilar-Salinas, & Hernandez-Avila, 2017).

El análisis del estado físico de las ratas fue llevado a cabo a través del cálculo de tasas de crecimiento/decremento del peso corporal (Tasa C/D), las cuales se realizaron usando la fórmula de variación porcentual como se muestra en la fórmula 3 (E L B Novelli & F Mani, 2007).

$$\text{Tasa C/D} = ((\text{Valor final} - \text{Valor inicial}) / \text{Valor inicial}) \times 100 \quad (3)$$

La duración del estudio fue de 20 semanas y consistió en 6 grupos de 6 unidades animales, de los cuales 3 grupos fueron de ratas diabéticas y 3 grupos fueron de ratas normoglucémicas. La estrategia experimental utilizada se muestra en la Figura 9.

Se llevaron a cabo seis tomas de muestra sanguínea de la vena caudal, a cada una de las unidades experimentales para la obtención del suero durante las 20 semanas del experimento.

Cada semana se ajustó la cantidad de extracto administrado de acuerdo con la dosis determinada (5 mg/mL/kg) y el peso corporal de las unidades experimentales.

Estrategia experimental de la evaluación del efecto subcrónico

| Estado de salud | Tratamientos | n |
|-----------------------|--------------|----|
| Ratas normoglucémicas | Agua | 6 |
| | SQGD | 6 |
| | SQCD | 6 |
| Ratas diabéticas | Agua | 6 |
| | SQGD | 6 |
| | SQCD | 6 |
| Total de ratas | | 36 |

SQG: *S. quercicola* recolectada de *G. ulmifolia*
 SQC: *S. quercicola* recolectada de *Citrus* sp.



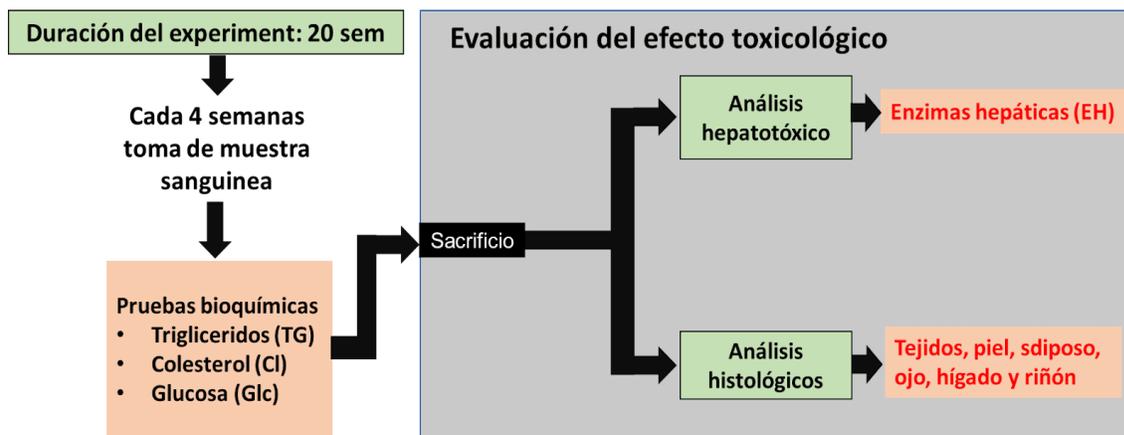
Administración orogástrica diaria de extracto con dosis tradicional 5 mg/kg Ratas con tratamiento de insulina.

Figura 9. Tratamientos para la evaluación del efecto subcrónico de las decocciones de *S. quercicola* en ratas *Wistar*.

6.5.5 Evaluación del efecto hepatotóxico

El estudio fue llevado a cabo mediante la determinación de las concentraciones de las enzimas hepáticas y bilirrubinas (hepatotóxico) y estudios histológicos (Figura 10).

Procedimiento experimental del estudio del efecto subcrónico



Registro de peso corporal de manera semanal y el consumo de alimentos de cada animal.

Figura 10. Evaluación del efecto subcrónico y del efecto hepatotóxico

Al concluir el estudio subcrónico de 20 semanas, fueron tomadas muestras sanguíneas de las unidades experimentales de ambos estados de salud para llevar a cabo las pruebas de funcionamiento hepático. Se usaron protocolos sin modificaciones y *kits* comerciales de SPINREACT S.A.U. para las determinaciones de bilirrubina total (BT), bilirrubina directa (BD) y enzimas hepáticas citosólicas: aspartato-aminotransferasa o transaminasa glutámico-oxalacética (AST o TGO) y alanina aminotransferasa o transaminasa glutámico-pirúvica (ALT o GPT). Los valores de referencia se muestran en el Cuadro 9

Cuadro 9. Parámetros de referencia para el análisis hepatotóxico en ratas Wistar macho (León Goñi, 2011).

| Parámetro | Rango de referencia |
|------------------------------------------|---------------------|
| Bilirrubina total (BT) | 0.01-0.43 mg/dL |
| Bilirrubina directa (BD) | 0.04-0.12 mg/dL |
| Fosfatasa alcalina (FA) | 134.5-357.3 UI/L |
| Transaminasa glutámico-pirúvica (TGP) | 41-83 UI/L |
| Transaminasa glutámico-oxalacético (TGO) | 61.4-276.2 UI/L |

6.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó a través del programa GraphPad Prism® versión 5.01 (*GraphPad Software*, San Diego, California, EE. UU.). Los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad, también se realizaron análisis de varianza (ANOVA), de una o dos vías, y comparación múltiple de medias con la prueba de Bonferroni para cada extracto evaluado, y cada estado de salud de manera independiente. El grado de significancia de los datos se consideró con una probabilidad < 0.05 . Los resultados fueron presentados como medias con errores estándar de la media ($X \pm EEM$) o desviación estándar de la media ($X \pm DE$).

6.7 Estudio fitoquímico

6.7.1 Identificación de metabolitos secundarios con actividad antidiabética

Para la identificación de metabolitos secundarios con actividad antidiabética se llevó a cabo un estudio biodirigido, usando como tamiz biológico la inhibición de la enzima α -glucosidasa *in vitro* por el método TGO de los extractos estudiados (Figura 11). La identificación de los componentes fitoquímicos de los extractos fue a través de la obtención de los espectros de los extractos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM), cromatografía líquida de ultra alta definición (UHPLC), comparación con bases de datos y productos o muestras de referencia.

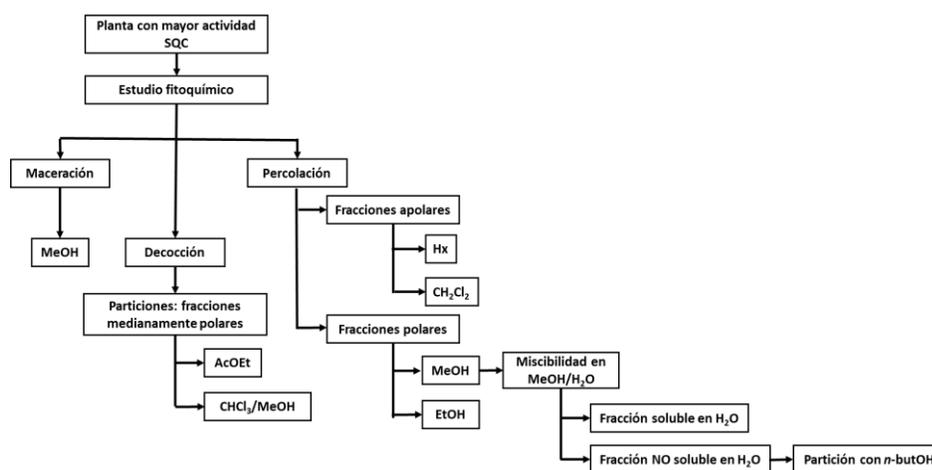


Figura 11. Procedimiento experimental llevado a cabo en el estudio fitoquímico de *S. quercicola* para la identificación de metabolitos secundarios con actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa.

Después de obtener los resultados del estudio de la actividad inhibitoria de los extractos acuosos de *S. quercicola* recolectada sobre ambos hospederos, se procedió al fraccionamiento del material vegetal con mayor actividad *in vitro*. Obteniéndose extractos de polaridad baja, intermedia y alta utilizando diferentes técnicas de extracción y disolventes. En el Cuadro 10 se muestran las claves de los extractos obtenidos.

Cuadro 10. Claves de las extracciones orgánicas de *S. quercicola* recolectado de *Citrus* sp.

| Extracto | Disolvente | Clave | %R |
|--------------------------|--------------------|------------------------------|-----|
| Maceración | Metanol | MMeOH | 13 |
| Decocción | Agua | SQCD | 13 |
| Percolación | Hexano | SQCPHx | 2 |
| | Diclorometano | SQCPDCM | 1 |
| | Metanol | SQCPMeOH | 5 |
| | Etanol | SQCPEtOH | 5 |
| Partición de SQCD | AcOEt | SQCDpAcOEt | 0.4 |
| | Cloroformo/Metanol | SQCDpCHCl ₃ /MeOH | 2 |

R= rendimiento

El análisis en cromatografía en capa delgada (CCD) fue llevado a cabo utilizando placas cromatográficas con soporte de aluminio impregnadas con gel de sílice 60 F₂₅₄ de 0.20 mm de espesor (Merck) y cortadas en el laboratorio. Los componentes separados por CCD se visualizaron bajo luz UV de onda corta (254 nm) y larga (365 nm); y con el uso de un agente revelador, consistente en una disolución al 4% de ácido fosfomolibdico con trazas de sulfato sérico en H₂SO₄ al 5% y sulfato sérico en ácido sulfúrico 2 N. Las placas cromatográficas se calentaron en una parrilla para visualizar los metabolitos presentes.

6.7.2 Extracción por maceración

En un vaso de precipitado se colocaron 5 g de la planta seca y pulverizada y se añadieron 50 mL de disolvente (MeOH), se dejó macerar por una semana y con homogeneización diaria. Pasado el tiempo, se filtró por gravedad (Whatman, Ø = 125 mm) y posteriormente a vacío (marcha Büchi, modelo V-700). El extracto se concentró con ayuda de un evaporador rotatorio (Büchi, MR-3) y la muestra se terminó de secar en un horno a 50 °C (DHG-9145A); se calculó su rendimiento y se almacenó a 4 °C.

6.7.3 Extracción por percolación

Para la percolación se utilizaron disolventes orgánicos de diversas polaridades: hexano (Hx), diclorometano (CH₂Cl₂), metanol (MeOH) y etanol (EtOH).

El procedimiento consistió en colocar en un percolador la planta molida y pulverizada. Para la planta recolectada de *G. ulmifolia* se utilizó un percolador con diámetro de 8.5 cm y 100 cm de largo, y 874.82 g de planta. Para la recolectada de *Citrus* sp. un percolador de 100 cm de largo y 10 cm de diámetro, y 914.81 g de planta. Posteriormente se agregó Hx y se dejó en reposo por 24 h, se recuperó la fracción y se volvió a llenar con más Hx. Se continuó colectando fracciones hasta que las mismas ya no presentaron coloración y ya no se encontraron metabolitos al realizarles el análisis cualitativo por CCD utilizando el revelador. Luego se decantó todo el disolvente del percolador y se realizó el cambio de disolvente a CH₂Cl₂, llevando a cabo el procedimiento antes mencionado para después repetir con EtOH o MeOH. Los extractos obtenidos fueron secados en un evaporador rotatorio y en horno a 50 °C; se calculó su rendimiento y se almacenaron a 4 °C.

6.7.3.1 Fraccionamiento de la percolación MeOH por afinidad/miscibilidad

El extracto SQCPMeOH presentó diferencia de densidades entre los metabolitos secundarios, los cuales se separaron por afinidad/miscibilidad en una solución H₂O:MeOH, 1:3 v/v. Las fases separadas se llevaron a sequedad y se observó que una fase era miscible en agua, se denominó como F1, y la otra fue miscible en MeOH y se denominó F2.

F2 fue sometida a una partición líquido-líquido, usando una solución H₂O:MeOH 1:3 v/v y como fase móvil *n*-butanol. Para este caso, la fase orgánica fue denominada *F_n*-ButOH y la acuosa como F3.

6.7.4 Identificación de compuestos

Se realizó una comparación de los perfiles cromatográficos de las percolaciones MeOH y CH₂Cl₂ de SQG y SQC, al igual que de la fracción F2. El análisis por CG/EM se llevó a cabo usando un cromatógrafo de gases 7890B, marca *Agilent Technologies*, acoplado a un espectrofotómetro de masas con ionización por impacto electrónico, modelo: 5977A de la misma marca. La identificación de compuestos se realizó mediante deconvolución usando las bibliotecas: *Mass Hunter*, *Wiley10* y *Nist11 G1035* (W10N11).

También se llevó a cabo una cuantificación de metabolitos secundarios por cromatografía líquida de alta resolución acoplado a un detector de Diodo-Array (*Ultra-high performance liquid chromatography coupled with Diode-Array UV-Vis detector system*, UHPLC-DAD-UV), marca Dionex Ultimate 3000 acoplado a una bomba y a un automuestriador de *Thermo Scientific*) en los extractos acuosos de *S. quercicola* usando como referencia los siguientes compuestos fenólicos (Cuadro 11): vitexina (≥95%), vitexina-2-O-ramnosido (≥98%), rutina (≥95%), quercetin-3-D-galactosido (≥97%), epicatequina (≥98%), y quercetin-3-β-D-glucosido (≥90%). Las condiciones del estudio fueron: columna de fase reversa Hypersil GOLD™ aQ C18 (2.1 × 100 mm), fase móvil A (solución acuosa de ácido acético al 0.1%) y B (MeOH:MeCN, 1:1 v/v). El gradiente utilizado consistió en fase A con flujo constante de 0.450 mL/min al 90%, después se disminuyó el gradiente linealmente al 85% de A en 10 min, se mantuvo esta condición por 15 min. Posteriormente el gradiente disminuyó a 80% de A en 5 min, finalmente bajó a 70% de A en 5 min. Por último, el gradiente fue restaurado a 80% en 5 min y alcanzó la condición inicial en 2 min, se mantuvo así por otros 2 min antes de la nueva inyección. El tiempo total de corrida fue de 45 min. Los datos fueron

recolectados y procesados usando Chromeleon Dionex software V7.2.9.11323 (Thermo Scientific)

Cuadro 11. Estándares para el análisis y cuantificación de metabolitos secundarios

| Estándar | λ nm | Condiciones de la curva analítica | Tr (min) |
|------------------------------------|--------------|------------------------------------------|----------|
| Vitexina | 270 | $y=112666x - 0,0239$, $R^2=0.9957$ | 15.437 |
| Vitexina-2-O-ramnosido | 361 | $y= 187184x - 0.3327$ nm, $R^2= 0.9916$ | 15.443 |
| Rutina | 361 | $y = 187184x - 0,3327$, $R^2 = 0.9916$ | 22.653 |
| Quercetina-3- β -D-glucosido | 361 | $y=197774x - 0.321$, $R^2=0.9676$; | 21.693 |
| Epicatequina | 270 | $y=70054x - 0.375$, $R^2=0.9931$ | 5.737 |
| Quercetina-3-D-galactosido | 361 | $y= 814,45x - 5.8769$, $R^2 = 0.9986$. | 37.443 |

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Actividad antidiabética *in vitro*

Considerando que la forma tradicional de consumo de *S. quercicola* son las decocciones. Éstas se evaluaron mediante un tamiz biológico por inhibición de la enzima α -glucosidasa determinado por medio de espectroscopía UV-Vis con el método TGO. También se optó por evaluar otras formas de obtener extractos acuosos que sean accesibles en el hogar como son infusión y el uso de microondas.

En el Cuadro 12 se presentan los resultados obtenidos. Los extractos de la planta recolectada de *Citrus* sp. mostraron mayor actividad inhibitoria ($P<0.05$), siendo la decocción (SQCD) la que tuvo mayor actividad. Comparando con la referencia (acarbosa), a excepción de SQGI, todos los extractos mostraron mayor actividad ($P<0.05$).

Los extractos acuosos provenientes de la planta recolectada de *Citrus* sp. mostraron mejor actividad inhibitoria, por lo que se procedió a realizar un estudio de inhibición de extractos orgánicos obtenidos por maceración, percolación y fraccionamiento de la decocción.

Los valores de CI_{50} de todos los extractos fueron menores que la acarbosa, excepto las fracciones apolares obtenidas por percolación (SQCPHx y SQCPDCM). El extracto metanólico por percolación (SQCPMeOH) obtuvo la mayor inhibición de la enzima ($P < 0.05$), seguido de la percolación etanólica (SQCPeOH) y la decocción (SQCD). Como se mencionó en la sección 5.7.2.1, SQCPMeOH fue sometido a un fraccionamiento por precipitación con MeOH/H₂O. El estudio mostró un mayor efecto inhibitorio en las fracciones polares, pero en *n*-ButOH el efecto fue mayor en la fase orgánica que se presume compuesta por metabolitos con menor polaridad que los encontrados en la fase acuosa F3.

Se observó que los metabolitos secundarios con características químicas apolares también presentan inhibición de la enzima α -glucosidasa. Existen reportes de la actividad inhibitoria de metabolitos obtenidos de fracciones apolares en la enzima α -glucosidasa (Etsassala *et al.*, 2019; Lianza *et al.*, 2022) (Leitão *et al.*, 2013).

Los flavonoides son polifenoles que pueden ser aislados de las fracciones polares obtenidas de plantas medicinales y que por su estructura química tienden a ser mejores inhibidores que los terpenoides (Chu, Wu, & Hsieh, 2014) principalmente los flavonoides glicosilados. Los compuestos mencionados han mostrado actividad inhibitoria efectiva, con $CI_{50} > 12 \mu M$ (Lianza *et al.*, 2022) (Proenca *et al.*, 2017).

Considerando la información reportada, los compuestos contenidos en *S. quercicola*, y los resultados obtenidos, se propone que los metabolitos secundarios que le otorgan la actividad inhibitoria *in vitro* a *S. quercicola* son polifenoles. La actividad inhibitoria de estos metabolitos secundarios es ampliamente conocida (Sun *et al.*, 2020), pero en el caso de la especie *S. quercicola*, aún se desconocen los metabolitos secundarios que le otorgan sus propiedades antidiabéticas.

En este estudio, de acuerdo con los resultados se observó que la actividad inhibitoria tiene una dependencia respecto al hospedero de colecta, siendo los extractos acuosos y orgánicos obtenidos de *Citrus sp.* los que mostraron mayor efectividad en inhibir la actividad de la enzima. El hecho antes mencionado podría deberse a la presencia de diferentes metabolitos bioactivos contenidos en los ejemplares estudiados o por una diferencia de concentración de los mismos debida a la interacción muérdago-hospedero, las cual afecta la producción de metabolitos secundarios en ambos sentidos (Song, Wang, Xue, Peng, & Yang, 2022). En estudios previos de especies de la familia Loranthaceae se ha reportado la actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa dependiente de hospedero (Mathew & T.G, 2022).

Por otra parte, las fracciones F1 y F2, obtenidas de SQCPMeOH no mostraron diferencias en su actividad inhibitoria, pero F2 obtuvo mayor rendimiento. Se propone llevar a cabo un perfil cromatográfico por UHPLC de estas dos fracciones para conocer si son fitoquímicamente distintas y contienen metabolitos diferentes con la misma actividad biológica.

7.2 Actividad antidiabética *in vivo*

La actividad antidiabética de la especie *S. quercicola* en ratas *Wistar* se examinó mediante dos modelos de estudio, el primero fue la evaluación del efecto antidiabético agudo de los extractos SQGD y SQCD en ratas *Wistar* euglicémicas, posteriormente se evaluó el efecto antidiabético subcrónico llevado a cabo con las mismas ratas euglicémicas y con ratas diabéticas.

7.2.1 Efecto antidiabético agudo

La evaluación del efecto antidiabético agudo consistió en la determinación de las concentraciones de glucosa mediante curvas de tolerancia a carbohidratos. El efecto hipoglucemiante de las decocciones de la planta (SQGD y SQCD) fue comparado al efecto inducido por fármacos de referencia con diferentes mecanismos de acción, los fármacos utilizados fueron metformina y glimepirida. El efecto antihiperoglucemiante se

observó utilizando maltosa como sustrato de la enzima α -glucosidasa y la acarbosa como fármaco de referencia para comparar el efecto.

A continuación, se muestran los resultados de la determinación de las concentraciones de glucosa en las ratas, a las cuales se les administraron 5 mg/kg/mL de las decocciones de *S. quercicola*, para llevar a cabo las curvas de tolerancia a carbohidratos. Los resultados obtenidos en la curva de tolerancia a glucosa, Figura 15A, permiten observar el efecto hipoglucemiante de la planta no dependiente del hospedero y sin diferencia con el efecto inducido por la metformina (M) y las dos decocciones (SQGD y SQCD). Por otro lado, SQGD y SQCD mostraron diferencias en las concentraciones de glucosa a los 30 y 60 min con la glimepirida (G) que obtuvo concentraciones mayores ($P<0.05$). En el caso del efecto antihiperoglucemiante, Figura 15B, se observa que no existió evidencia de un efecto dependiente del hospedero en las decocciones, pero si mostraron un efecto antidiabético similar al observado usando acarbosa (A) como tratamiento ($P<0.05$).

Estos resultados indican una actividad antidiabética *in vivo* no dependiente del hospedero de recolecta de la especie *S. quercicola*, cuyas decocciones indujeron un efecto hipoglucemiante similar a la metformina y un efecto antihiperoglucemiante similar a la acarbosa en ratas *Wistar* euglicémicas.

Los resultados obtenidos en la evaluación del efecto agudo no concordaron con los obtenidos en el estudio *in vitro* (Cuadro 12), donde si se observó una dependencia del hospedero. Aunque se conoce que la actividad antidiabética de los muérdagos es dependiente de hospedero (Orhan, Aslan, Sendogdu, Ergun, & Yesilada, 2005), se debe tomar en cuenta que las ratas son un modelo más complejo, la presencia de metabolitos secundarios bioactivos que causen un efecto antihiperoglucemiante por un mecanismo de acción diferente es posible. Por ejemplo, la inhibición de la enzima α -amilasa, este mecanismo de acción ya ha sido reportado *in vitro* en otros géneros de la familia a la que pertenece *Struthanthus*, este es el caso de los extractos acuosos de *Dentrophthoe falcata* (Naskar, Ray, Parui, & Mondal, 2019).

7.2.2 Efecto antidiabético subcrónico

En la Figura 16 se observa que las concentraciones de glucosa sanguínea determinadas en las ratas diabéticas tratadas con SQCD fueron menores que las obtenidas de las ratas diabéticas tratadas con SQGD en las semanas 3, 7, 10, 17 y 20 ($P < 0.05$). Por otra parte, las ratas diabéticas tratadas con el extracto SQCD resultaron con concentraciones de glucosa en sangre similares a las ratas normoglucémicas pero las ratas diabéticas tratadas con SQGD presentaron concentraciones mayores ($P < 0.05$).

El extracto SQCD mostró la habilidad de mantener la homeóstasis de glucosa en ratas diabéticas durante 20 semanas, por lo tanto, este efecto fue dependiente del hospedero, lo que sustenta la teoría de la existencia de una diferencia en el perfil fitoquímico dependiente de hospedero en la especie *S. quercicola*. Los metabolitos secundarios con diversos mecanismos de acción antidiabética podrían inducir el beneficio a largo plazo observado en el extracto SQCD pero no en SQGD (Caro-Ordieres *et al.*, 2020).

Estudios *in vivo* en ratas reportaron que especies de *Viscum* (muérdagos de la misma familia que *S. quercicola*), exhiben efecto antiglicémico e insulínico, lo que disminuye los niveles de glucosa sanguínea e incrementa las concentraciones de insulina (Szurpnicka, Kowalczyk, & Szterk, 2020). Este hecho resalta la importancia del estudio de los extractos de plantas como tratamiento alternativo de la DMII, dado que es requerida una combinación del efecto farmacológico de dos o más antidiabéticos orales para mejorar la homeóstasis de glucosa en los pacientes y retardar el desarrollo fatal de la patología (Hallakou-Bozec *et al.*, 2021).

El extracto metanólico de *P. calyculatus*, un muérdago del género *Psittacanthus* fue reportado con actividad antidiabética atribuida a compuestos fenólicos, como taninos condensados, catequina y ácido gálico, en ratas con diabetes inducida por STZ (Avila-Acevedo & Cespedes., 2012). En el caso de género *Struthanthus*, se ha reportado el efecto antidiabético de la rutina, un flavonoide aislado de *S. subtilis*, por medio de la

inhibición de la absorción intestinal de carbohidratos, disminución de la gluconeogénesis, aumento de la utilización de glucosa y la estimulación de la secreción de insulina por el páncreas (Ghorbani, 2017).

7.2.3 Evaluación de las concentraciones de colesterol y triglicéridos

Se evaluaron los resultados de las concentraciones de colesterol y triglicéridos en los grupos de ratas, tanto normoglucémicas como diabéticas durante la evaluación del efecto antidiabético subcrónico, los mismos se muestran en la Figura 17.

Los resultados obtenidos concluyeron en el efecto de la planta es nulo y sin dependencia de hospedero en las concentraciones de colesterol y triglicéridos ($P > 0.05$), los cuales exhibieron niveles en el rango normal durante todo el estudio, entre 33-115 mg/dl para colesterol y 52.2-186 mg/dl para triglicéridos (León Goñi, 2011).

No se encontraron reportes previos sobre actividad antihiperlipídica en el género *Struthanthus*, a pesar de que se ha reportado este efecto farmacológico en otras especies de Lorantaceae. Este es el caso de los extractos acuosos de *Ligaria cuneifolia*, un muérdago endémico de Brasil, los cuales mostraron disminuir los niveles de colesterol y otros lípidos en estudios *in vitro* e *in vivo*, esta actividad fue atribuida a las proantocianidinas contenidas en los extractos (Dominighini *et al.*, 2015; Gonzalez *et al.*, 2017).

La recaudación de los pesos semanales, de cada una de las unidades experimentales fueron importantes para determinar el estado físico de las ratas, además de los otros cálculos derivados de esta recaudación. Estadísticamente los grupos no fueron diferentes ($P > 0.05$), pero podrían ser biológicamente diferentes.

Otro parámetro analizado durante la evaluación del efecto subcrónico de las decocciones de *S. quercicola* fue el residuo de alimento no consumido por cada grupo de estudio. El estado diabético del grupo Ctrl-STZ D coincidió con el mayor consumo de alimento reportado durante las 20 semanas, esto evidenció la fisiopatología

diabética en las ratas ($P < 0.05$). El grupo Ctrl-E fue el que menor consumo mostró ($P < 0.05$), por lo que se referenció como el consumo normal, dado que ese grupo fue de ratas a las que se les administró solamente agua como tratamiento. En el caso de las ratas euglicémicas tratadas con las decocciones mostraron mayor consumo de alimento comparado con su grupo control. El grupo SQCD-STZ D mostró un menor consumo de alimento, por lo que las ratas en ese grupo no evidenciaron fisiopatología diabética durante el estudio subcrónico. Las ratas del grupo SQGD-STZ D, por otra parte, mostraron un comportamiento diferente, dado que la cantidad de residuos de alimento recolectado de este grupo fue menor que la del grupo SQCD-STZ D, pero mayor que el grupo control ($P < 0.05$).

La determinación de peso corporal y residuos de alimentos consumidos son parámetros que suelen ser utilizados como indicador del sufrimiento y el estrés en los animales durante el tiempo experimental. Puesto que el grupo Ctrl-E mostró parámetros normales, las variaciones en los demás grupos pueden ser atribuidos a la fisiopatología de la diabetes y a los tratamientos administrados (Ghasemi, Jeddi, & Kashfi, 2021).

Las ratas del grupo SQCD-STZ D mostraron tasas de crecimiento menor (sin sobrepeso) y nula evidencia de polifagia, por lo que el efecto de la planta sobre estos parámetros podría ser dependiente de hospedero. Estos datos son el primer reporte del efecto de *S. quercicola* evaluado en ratas, por lo que se requieren estudios con mayor sensibilidad para concluir sobre sus efectos farmacológicos sobre estos parámetros.

7.3 Evaluación del efecto hepatotóxico

La evaluación del efecto hepatotóxico fue llevada a cabo posteriormente al estudio del efecto antidiabético a largo plazo en las mismas ratas. Para evaluar el estado funcional hepático de las ratas euglicémicas y diabéticas tratadas por 20 semanas con los extractos de *S. quercicola* se determinaron las concentraciones serológicas de las enzimas hepáticas fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST) y

alanino aminotrasferasa (ALT), y las concentraciones de bilirrubina total (TB), bilirrubina directa (DB) y bilirrubina indirecta (IB), Cuadro 13.

Los valores normales para las enzimas de funcionamiento hepático evaluadas son ALP: 134-357 U/L, AST: 61-276 U/L y ALT: 41-83 U/L (León Goñi, 2011). Las ratas euglicémicas tratadas con las decocciones no mostraron incremento en la concentración de las enzimas, pero el grupo de ratas euglicémicas tratadas con el extracto SQGD mostraron menos cantidad de ALP y ALT que su control y que el extracto SQCD ($P < 0.05$). Las mismas enzimas determinadas en las ratas diabéticas en el grupo control obtuvieron concentraciones elevadas o en el borde de los valores normales, como se espera debido al estado de salud. En el caso de las ratas diabéticas tratadas con las decocciones registraron concentraciones menores y más cercanas a las normales ($P < 0.05$), evidenciando un efecto hepatoprotector inducido por los metabolitos secundarios de *S. quercicola*. Se observaron concentraciones menores de AST y ALT en las ratas tratadas con SQGD que con las tratadas con SQCD ($P < 0.05$).

El análisis de las concentraciones de bilirrubina reveló que las ratas tratadas con los extractos obtuvieron menores concentraciones que las ratas en el grupo control, a las que se les administró agua destilada. La disminución en las concentraciones de TB y IB fue más evidente en las ratas tratadas con SQGD ($P > 0.05$). En el caso de las concentraciones de las bilirrubinas determinadas en las ratas diabéticas se encontró una mayor disminución de las concentraciones de TB, DB y IB en las ratas tratadas con SQGD ($P < 0.05$), aunque SQCD también disminuyó el daño hepático causado por la diabetes, mostrando menores concentraciones de bilirrubinas en las ratas tratadas con este extracto, comparándolas con las concentraciones obtenidas en las ratas diabéticas control ($P < 0.05$).

S. quercicola no indujo toxicidad en el hígado después de ser administrada diariamente por 20 semanas a ratas euglicémicas y diabéticas. El extracto obtenido por decocción de *S. quercicola* recolectada sobre el hospedero 1 (*Guazuma ulmifolia*) mostró mayor efecto hepatoprotector que el extracto de la planta recolectada sobre el hospedero 2 (*Citrus* sp.). Esto sustenta la hipótesis de la existencia de diferencias en la composición

fitoquímica dependiente de hospedero. El efecto hepatoprotector se ha reportado en estudios previos en especies de otros géneros de la familia Loranthaceae, por ejemplo, los extractos acuosos de *Tapinanthus globiferus* mostraron incrementar la actividad de las transaminasas y de la fosfatasa alcalina (Raceline *et al.*, 2019). El muérdago mejor conocido, *V. álbum* fue reportado con efecto hepatoprotector en estudios *in vivo* en ratas, con disminución de los niveles en los marcadores de daño hepático ALT y AST, al igual que disminuyó la concentración de bilirrubina (Nazaruk & Borzym-Kluczyk, 2015). El efecto hepatoprotector en las plantas es atribuido principalmente a la capacidad antioxidante de sus metabolitos secundarios (H. Wu *et al.*, 2017). La capacidad antioxidante de los extractos acuosos de *S. quercicola* fue reportada en estudios previos (Alcantara-Quintana, Arjona-Ruiz, de Loera, Gamboa-Leon, & Teran-Figueroa, 2022), pero los resultados reportados no concuerdan con el efecto hepatoprotector dependiente del hospedero encontrado en esta evaluación, dado que los extractos acuosos de SQG revelaron menor capacidad antioxidante que los extractos de SQC, por lo que el efecto sobre los marcadores de daño hepático dependiente de hospedero podría atribuirse a diferencias entre los metabolitos secundarios producidos en SQG y SQC.

7.4 Identificación de metabolitos secundarios con actividad antidiabética

Considerando los resultados discutidos en la sección 6.1, se realizó un análisis fitoquímico por cromatografía de gases acoplado a masas de los extractos apolares, los cuales también presentaron actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa *in vitro*. Debido a que los extractos acuosos fueron los que presentaron mejor actividad inhibitoria *in vitro*, y fueron los estudiados en los ensayos *in vivo*, se realizó una cuantificación de metabolitos secundarios por cromatografía de líquidos de alta resolución.

7.4.1 Identificación por CG/EM

La mayoría de los compuestos identificados en los extractos obtenidos por percolación con hexano, (SQCPHx) y con diclorometano (SQCPDCM) fueron esteroides y triterpenos conocidos, algunos ya descritos previamente en el género y ampliamente distribuidos en la familia Loranthaceae (Barlow, 1997). Los triterpenos y esteroides tienen varios mecanismos de acción antidiabético, entre los que se encuentra la inhibición de α -glucosidasa (Jayaraman, 2021; Nazaruk & Borzym-Kluczyk, 2015), por lo que el efecto inhibitorio exhibido por estos extractos apolares de *S. quercicola* podrían ser atribuidos a estos tipos de metabolitos.

7.4.2 Cuantificación por UHPLC

Se llevó a cabo una cuantificación de metabolitos secundarios por UHPLC en los extractos acuosos de *S. quercicola*, usando como referencia los siguientes compuestos fenólicos: rutina ($\geq 95\%$), vitexina ($\geq 95\%$), vitexina-2-O-ramnósido ($\geq 98\%$), quercetina-3-D-galactosido ($\geq 97\%$), epicatequina ($\geq 98\%$), y quercetina-3- β -D-glucósido ($\geq 90\%$). Estos fueron elegidos por ser compuestos fenólicos comúnmente encontrados en la familia Loranthaceae, en los muérdagos o por ser flavonoides más comunes encontrados en plantas con enlace C-glicosilado, los resultados se muestran en el cuadro 15 y las estructuras químicas en la Figura 20.

Se encontraron cuatro compuestos de los seis evaluados, dos de los mismos estuvieron presentes en todos los extractos acuosos, independientemente del tipo de extracción. Aunque la concentración si fue afectada, uno de ellos estuvo en menor concentración en los extractos obtenidos por microondas y en mayor concentración en los extractos por decocción. Otro compuesto se encontró en menor concentración en las infusiones y en mayor concentración en las decocciones. El hospedero también afecto en las concentraciones de algunos metabolitos secundarios, los cuales se encontraron en mayor concentración en todas las extracciones de la planta recolectada sobre *Citrus* sp. (H2). Uno de los compuestos sólo fue encontrado en la planta recolectada sobre

Citrus sp. (H2) sin importar el tipo de extracción. Otro metabolito secundario sólo fue identificado en la infusión de la planta recolectada sobre *Guazuma ulmifolia*.

Los efectos farmacológicos benéficos a la salud de la vitexina fueron previamente reportados, estos incluyen regulación de la homeóstasis de glucosa, metabolismo de grasas y hepatoprotección. La actividad antidiabética consiste en la promoción de la utilización de glucosa por traslocación de GLUT4 via PI3K/Akt. La vitexina protege al páncreas del daño vía Nrf2 y antioxidasas (Ganesan, Ramkumar, & Xu, 2020), esto evita el avance de la fisiopatología de la diabetes. Estos reportes son concordantes con los resultados obtenidos en la evaluación de los extractos acuosos de *S. quercicola*, dado que la vitexina se encontró en las colectas de ambos hospederos (SQG y SQC) pero a diferente concentración. Este hecho podría explicar el efecto antidiabético agudo no dependiente de hospedero y el efecto subcrónico dependiente de hospedero resultante en la evaluación. También se encontró que el mecanismo del efecto antidiabético agudo de *S. quercicola* es similar al mecanismo de la metformina, la cual promueve la utilización de glucosa y también tiene efecto sobre la utilización de los lípidos (Peng *et al.*, 2019). De acuerdo con lo anterior, el grupo de ratas diabéticas tratadas con SQC no sufrieron sobrepeso, ni mostraron deterioro por la patogenia de la diabetes, como es el daño hepático. Todos los anteriores beneficios podrían ser atribuidos a la vitexina contenida en *S. quercicola*, dado que este compuesto ha mostrado ser hepatoprotector (Peng *et al.*, 2021; Wu, Li, Li, & Song, 2017).

Vitexina-2-O-ramnósido puede mejorar el peso corporal en ratones inmunosuprimidos con pérdida de peso (ilun Wang, 2022,), esto podría explicar las tendencias de mayor tasa de aumento de peso en las ratas euglicémicas tratadas con SQG y SQC en comparación con su control, que fue menor. Este compuesto, también es un inhibidor de la enzima α -glucosidasa al igual que Quercetina-3- β -D-glucósido (Xiao, Capanoglu, Jassbi, & Miron, 2016), el primero se encontró en mayor concentración en SQC y el segundo sólo fue encontrado en los extractos de SQC. Lo antes mencionado podría explicar la actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa dependiente de hospedero encontrada en *S. quercicola*. Quercetina-3- β -D-glucósido fue reportado con efecto

hepatoprotector en ratas con hepatotoxicidad inducida por acetaminofen (Shanmugam *et al.*, 2016), esta acción farmacológica podría haber contribuido a la disminución del daño hepático en las ratas diabéticas tratadas con la decocción de SQC.

Epicatequina sólo fue encontrado en SQG, este compuesto en particular es un antioxidante por excelencia y protege a los tejidos del estrés oxidativo causado por el exceso de radicales libres de oxígeno, reduciendo al glutatión, en estudios previos *in vivo*. Este compuesto fue reportado con actividad reguladora positiva sobre los parámetros de la función hepática en ratas intoxicadas con CCl₄ (Alkinani *et al.*, 2021). La existencia dependiente de hospedero de este compuesto en *S. quercicola* podría explicar el efecto hepatoprotector observado en SQG pero no en SQC en ratas euglicémicas, dado que se debe tomar en cuenta la senescencia de las ratas, lo que causa un deterioro en el metabolismo de las ratas en general (Garg, Singh, Singh, & Rizvi, 2017).

7.4.3 Fraccionamiento de SQCPMeOH

Como se mencionó en la sección 5.7.2.1, la percolación metanólica de *S. quercicola* recolectada de *Citrus sp.* presentó dos fracciones, F1 soluble en agua y F2 no soluble en agua. A esta última fracción se le realizó una partición con *n*-butanol resultando una fase acuosa (F3) y una nueva fracción denominada PNButOH la cual resultó con la mejor actividad inhibitoria sobre la enzima α -glucosidasa (Figura 10).

Se tiene como perspectiva la identificación por UHPLC y el aislamiento de los metabolitos contenidos en la fracción activa F_{*n*}-ButOH para comparar los resultados con los obtenidos en el estudio por UHPLC de los extractos acuosos.

8. CONCLUSIÓN

Todos los compuestos cuantificados por UHPLC son compuestos conocidos, sus mecanismos de acción antidiabética ya han sido reportados con anterioridad por otros autores. Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad inhibitoria en la enzima *in vitro* y en los estudios de los efectos antidiabéticos agudo, subcrónico y la

evaluación del efecto hepatotóxico *in vivo*, concuerdan con la actividad biológica reportada en la literatura para dichos compuestos, por lo que la actividad antidiabética observada en los extractos de *S. quercicola* podría ser atribuida a los flavonoides antes mencionados, por lo que se acepta la hipótesis nula. El estudio proporciona un soporte científico al uso medicinal de *S. quercicola* como tratamiento alternativo para la DMT2 y reporta que no tiene efecto hepatotóxico posterior a su administración en forma de decocción durante 20 semanas en ratas *Wistar*, tanto diabéticas como normoglucémicas.

9. REFERENCIAS

- Akash, M. S. H., Rehman, K., & Liaqat, A. (2018). Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cell Biochem*, 119(1), 105-110. doi:10.1002/jcb.26174
- Alcantara-Quintana, L. E., Arjona-Ruiz, C., de Loera, D., Gamboa-Leon, R., & Teran-Figueroa, Y. (2022). *In Vitro* Inhibitory and Proliferative Cellular Effects of Different Extracts of *Struthanthus quercicola*: A Preliminary Study. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 9679739. doi:10.1155/2022/9679739
- Alkinani, K. B., Ali, E. M. M., Al-Shaikh, T. M., Awlia Khan, J. A., Al-Naomasi, T. M., Ali, S. S., . . . Zafar, T. A. (2021). Hepatoprotective Effects of (-) Epicatechin in CCl4-Induced Toxicity Model Are Mediated via Modulation of Oxidative Stress Markers in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 4655150. doi:10.1155/2021/4655150
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol*, 99(3), 325-348. doi:10.1016/j.jep.2005.04.019
- Antonioli, L., Blandizzi, C., Csoka, B., Pacher, P., & Hasko, G. (2015). Adenosine signalling in diabetes mellitus--pathophysiology and therapeutic considerations. *Nat Rev Endocrinol*, 11(4), 228-241. doi:10.1038/nrendo.2015.10
- Apostolova, N., Iannantuoni, F., Gruevska, A., Muntane, J., Rocha, M., & Victor, V. M. (2020). Mechanisms of action of metformin in type 2 diabetes: Effects on mitochondria and leukocyte-endothelium interactions. *Redox Biol*, 34, 101517. doi:10.1016/j.redox.2020.101517
- Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J*, 24(5), 547-553. doi:10.1016/j.jsps.2015.03.013
- AVILA-ACEVEDO, G.-B., MARTÍNEZ-RAMÍREZ, C. HERNÁNDEZ-DELGADO2, IBARRA-BARAJAS, ROMO DE VIVAR, FLORES-MAYA,, & CESPEDES., P. V.-L. C. L. (2012). Antihyperglycemic effect and genotoxicity of *Psittacanthus calyculatus* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 11(4), 345-353.

- Balion, C. M., Raina, P. S., Gerstein, H. C., Santaguida, P. L., Morrison, K. M., Booker, L., & Hunt, D. L. (2007). Reproducibility of impaired glucose tolerance (IGT) and impaired fasting glucose (IFG) classification: a systematic review. *Clin Chem Lab Med*, 45(9), 1180-1185. doi:10.1515/CCLM.2007.505
- Barlow, B. (1997). Loranthaceae. Flora Malesiana-Series 1. *Spermatophyta*, 13(1), 209-401.
- Basto-Abreu, A., Barrientos-Gutierrez, T., Rojas-Martinez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Lopez-Olmedo, N., De la Cruz-Gongora, V., . . . Villalpando, S. (2020). [Prevalence of diabetes and poor glycemic control in Mexico: results from Ensanut 2016.]. *Salud Publica Mex*, 62(1), 50-59. doi:10.21149/10752
- Bello-Chavolla, O. Y., Rojas-Martinez, R., Aguilar-Salinas, C. A., & Hernandez-Avila, M. (2017). Epidemiology of diabetes mellitus in Mexico. *Nutr Rev*, 75(suppl 1), 4-12. doi:10.1093/nutrit/nuw030
- Brahmachari, G. (2011). *Anti-Diabetic Agents of Natural Origin: A Retrospective Account of Some Promising Chemotypes* (E. G. Brahmachari Ed.). Singapore: World Scientific.
- Caro-Ordieres, T., Marin-Royo, G., Opazo-Rios, L., Jimenez-Castilla, L., Moreno, J. A., Gomez-Guerrero, C., & Egido, J. (2020). The Coming Age of Flavonoids in the Treatment of Diabetic Complications. *J Clin Med*, 9(2). doi:10.3390/jcm9020346
- Carreras, G., & Pérez, A. (2016). Tratamiento de la diabetes mellitus (III). Insulinoterapia. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(18), 1026-1034. doi:10.1016/j.med.2016.09.012
- Clouatre, D., Rao, S., & Preuss, H. (2011). Bitter melon extracts in diabetic and normal rats favorably influence blood glucose and blood pressure regulation. *J. Med. Food*, 14(12), 1496-1504. doi:<https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0276>
- Dominighini, A., Ferrero, M., Crosetti, D., Ronco, M. T., González, J., Urli, L., . . . Luquita, A. (2015). Effects of proanthocyanidin enriched extract from *Ligaria cuneifolia* on plasma cholesterol and hemorheological parameters. In vivo and In vitro studies. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 60(3), 317-325. doi:10.3233/ch-141870
- Dong, G., Qu, L., Gong, X., Pang, B., Yan, W., & Wei, J. (2019). Effect of Social Factors and the Natural Environment on the Etiology and Pathogenesis of Diabetes Mellitus. *Int J Endocrinol*, 2019, 8749291. doi:10.1155/2019/8749291
- Dos Santos Gramma, L. S., Marques, F. M., Vittorazzi, C., de Andrade, T. A., Frade, M. A., de Andrade, T. U., . . . Fronza, M. (2016). *Struthanthus vulgaris* ointment prevents an over expression of inflammatory response and accelerates the cutaneous wound healing. *J Ethnopharmacol*, 190, 319-327. doi:10.1016/j.jep.2016.06.050
- E L B Novelli, Y. S. D., C M Galhardi, G M X Ebaid, H G Rodrigues,, & F Mani, A. A. H. F., A C Cicogna and J L V B Novelli Filho. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals Ltd. Laboratory Animals*, 41, 111-119.
- Etsassala, N., Badmus, J. A., Waryo, T. T., Marnewick, J. L., Cupido, C. N., Hussein, A. A., & Iwuoha, E. I. (2019). Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Inhibitory

- Activities of Novel Abietane Diterpenes from *Salvia africana-lutea*. *Antioxidants (Basel)*, 8(10). doi:10.3390/antiox8100421
- Filippatos, T. D., Panagiotopoulou, T. V., & Elisaf, M. S. (2014). Adverse Effects of GLP-1 Receptor Agonists. *Rev Diabet Stud*, 11(3-4), 202-230. doi:10.1900/RDS.2014.11.202
- Freire, S. M. d. F., Andrade, K. N. d. S., Aragão Jr, G. A., Noronha, E. P., Silva, S. d. N., Cartágenes, M. d. S. d. S., . . . Borges, A. C. R. (2011). Antiulcerogenic activity of the extracts of *Struthanthus marginatus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(6), 1089-1095. doi:10.1590/s0102-695x2011005000150
- Ganesan, K., Ramkumar, K. M., & Xu, B. (2020). Vitexin restores pancreatic beta-cell function and insulin signaling through Nrf2 and NF-kappaB signaling pathways. *Eur J Pharmacol*, 888, 173606. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173606
- Garg, G., Singh, S., Singh, A. K., & Rizvi, S. I. (2017). Antiaging Effect of Metformin on Brain in Naturally Aged and Accelerated Senescence Model of Rat. *Rejuvenation Res*, 20(3), 173-182. doi:10.1089/rej.2016.1883
- Ghasemi, A., Jeddi, S., & Kashfi, K. (2021). The laboratory rat: Age and body weight matter. *EXCLI J*, 20, 1431-1445. doi:10.17179/excli2021-4072
- Ghorbani, A. (2017). Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomed Pharmacother*, 96, 305-312. doi:10.1016/j.biopha.2017.10.001
- Gijón, E., García, X., Contreras-Barrios, M., Valencia, J., Magos, G., & Lorenzana-Jiménez, M. (2010). Effects of *Struthanthus venetus* methanol extract in the guinea pig heart. *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, 26-28.
- Goedeke, L., Perry, R., & Shulman, G. . (2019). Emerging pharmacological targets for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease, insulin resistance, and type 2 diabetes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 59, 65-87. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-104727>
- Gonzalvez, J., Garcia, G., Galliano, S., Dominighini, A., Urli, L., Monti, J., . . . Carnovale, C. (2017). The Enriched Proanthocyanidin Extract of *Ligaria cuneifolia* Shows a Marked Hypocholesterolemic Effect in Rats Fed with Cholesterol-Enriched Diet. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 11(1), 47-53.
- Halim, M., & Halim, A. (2019). The effects of inflammation, aging and oxidative stress on the pathogenesis of diabetes mellitus (type 2 diabetes). *Diabetes Metab Syndr*, 13(2), 1165-1172. doi:10.1016/j.dsx.2019.01.040
- Hallakou-Bozec, S., Vial, G., Kergoat, M., Fouqueray, P., Bolze, S., Borel, A. L., . . . Moller, D. E. (2021). Mechanism of action of Imeglimin: A novel therapeutic agent for type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 23(3), 664-673. doi:10.1111/dom.14277
- Henefeld, M., & Schaper, F. . (2007). The Role of Alpha-Glucosidase Inhibitors (Acarbose). In Springer (Ed.), *Pharmacotherapy of Diabetes: New Developments* (pp. 143-152). Boston.
- Hong Sun, P. S., Suvi Karuranga, Moritz Pinkepank, Katherine Ogurtsova, Bruce B. Duncan, Caroline Stein, Abdul Basit, Juliana C.N. Chan, Jean Claude Mbanya, Meda E. Pavkov, Ambady Ramachandaran, Sarah H. Wild, Steven James, William H. Herman, Ping Zhang, Christian Bommer, Shihchen Kuo, Edward J.

- Boyko, Dianna J. Magliano,. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045,. *Diabetes Research and Clinical Practice*,, 183,. doi:<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>.
- Chehri, A., Yarani, R., Yousefi, Z., Novin Bahador, T., Shakouri, S. K., Ostadrahimi, A., . . . Araj-Khodaei, M. (2022). Anti-diabetic potential of *Urtica Dioica*: current knowledge and future direction. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. doi:10.1007/s40200-021-00942-9
- Chu, Y.-H., Wu, S.-H., & Hsieh, J.-F. (2014). Isolation and characterization of α -glucosidase inhibitory constituents from *Rhodiola crenulata*. *Food Research International*, 57, 8-14. doi:10.1016/j.foodres.2014.01.029
- Wang, W. N., Xin Jin, Jingshuang Li, Yang Yu,. (2022). Vitexin-2-O-rhamnoside improves immunosuppression, oxidative stress, and phosphorylation of PI3K/Akt signal pathway in cyclophosphamide treated mice,. *European Journal of Pharmacology*,, 925,(174999). doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174999>.
- Jayaraman, S., Roy, A., Vengadassalopathy, S., Sekar, R., Veeraraghavan, V., Rajagopal, P., Manjunathan, R. (2021). An Overview on the Therapeutic Function of Foods Enriched. *Antioxidants*, 10(12), 1093. doi:<https://doi.org/10.3390/antiox10121903>
- Jiménez-Estrada, M., Velázquez-Contreras, C., Garibay-Escobar, A., Sierras-Canchola, D., Lapizco-Vázquez, R., Ortiz-Sandoval, C., Robles-Zepeda, R. . (2013). In vitro antioxidant and antiproliferative activities of plants of the ethnopharmacopeia from northwest of Mexico. *BMC Complement. Altern. Med.*, 13(12), 1-8. doi:<https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-12>
- Josabad Alonso-Castro, A., Jose Maldonado-Miranda, J., Zarate-Martinez, A., Jacobo-Salcedo Mdel, R., Fernandez-Galicia, C., Alejandro Figueroa-Zuniga, L., . . . Carranza-Alvarez, C. (2012). Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, Mexico. *J Ethnopharmacol*, 143(1), 292-298. doi:10.1016/j.jep.2012.06.035
- Kalra, S. (2014). Sodium Glucose Co-Transporter-2 (SGLT2) Inhibitors: A Review of Their Basic and Clinical Pharmacology. *Diabetes Ther*, 5(2), 355-366. doi:10.1007/s13300-014-0089-4
- Kamble, B., Gupta, A., Moothedath, I., Khatal, L., Janrao, S., Jadhav, A., & Duraiswamy, B. (2016). Effects of *Gymnema sylvestre* extract on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glimepiride in streptozotocin induced diabetic rats. *Chem. Biol. Interact*, 5, 30-38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.12.008>
- Khanra, R., Dewanjee, S., T, K. D., Sahu, R., Gangopadhyay, M., De Feo, V., & Zia-Ul-Haq, M. (2015). *Abroma augusta* L. (Malvaceae) leaf extract attenuates diabetes induced nephropathy and cardiomyopathy via inhibition of oxidative stress and inflammatory response. *J Transl Med*, 13, 6. doi:10.1186/s12967-014-0364-1
- Ko, B. S., Kang, S., Moon, B. R., Ryuk, J. A., & Park, S. (2016). A 70% Ethanol Extract of Mistletoe Rich in Betulin, Betulinic Acid, and Oleanolic Acid Potentiated beta-

- Cell Function and Mass and Enhanced Hepatic Insulin Sensitivity. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 7836823. doi:10.1155/2016/7836823
- Kumar, A., Aswal, S., Chauhan, A., Semwal, R. B., Singh, R., Andola, H. C., . . . Semwal, D. K. (2022). Antidiabetic effect of aqueous-ethanol extract from the aerial parts of *Artemisia roxburghiana*. *Nat Prod Res*, 36(5), 1300-1305. doi:10.1080/14786419.2020.1858414
- Leitão, F., de Lima Moreira, D., de Almeida, M. Z., & Guimarães Leitão, S. (2013). Secondary metabolites from the mistletoes *Struthanthus marginatus* and *Struthanthus concinnus* (Loranthaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 48, 215-218. doi:10.1016/j.bse.2012.12.007
- León Goñi, A., Blanco, D., Peña, A., Ronda, M., González, B., Arteaga, M., Mancebo, A. (2011). Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB, Cenp: SPRD. *Rev. Electron. Vet*, 12(11), 1-10.
- Li, Y., Zhou, F., Gao, F., Bian, J., & Shan, F. . (2009). Comparative Evaluation of Quercetin, Isoquercetin and Rutin as Inhibitors of α -Glucosidase. *J. Agric. Food Chem.*, 57(24), 11463-11468. doi:<https://doi.org/10.1021/jf903083h>
- Lianza, M., Poli, F., Nascimento, A. M. D., Soares da Silva, A., da Fonseca, T. S., Toledo, M. V., Leitao, S. G. (2022). In vitro alpha-glucosidase inhibition by Brazilian medicinal plant extracts characterised by ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 37(1), 554-562. doi:10.1080/14756366.2021.2022658
- Lv, W., Wang, X., Xu, Q., & Lu, W. (2020). Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides. *Curr Top Med Chem*, 20(1), 37-56. doi:10.2174/1568026620666191224141617
- Marte, L.-J., María, E. A., Alejandra, F., Lorena, M.-A., Gil, A. M. G., & Cristina, L. (2018). The Mexican mistletoe *Struthanthus venetus* (HBK Blume) inhibits proliferation and synergizes antagonistic actions of Tamoxifen and Fulvestrant in breast cancer MCF-7 cells. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 10(8), 133-141. doi:10.5897/jpp2018.0508
- Mathew, L., & T.G, A. (2022). In vitro Anti Diabetic Potential of Loranthacean Hemi Parasite *Helicantes elasticus* Desv Danser Collected from Six Different Hosts. *Defence Life Science Journal*, 7(1), 27-32. doi:10.14429/dlsj.7.17277
- Mendes, O., Koetzner, L., & Chen, J. (2018). Nutraceutical Impact on the Pathophysiology of Diabetes Mellitus. In *Nutritional and Therapeutic Interventions for Diabetes and Metabolic Syndrome* (pp. 329-341).
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*, 20(7), 1126-1167. doi:10.1089/ars.2012.5149
- Mogensen, C. (2007). *Pharmacotherapy of Diabetes: New Developments* (Springer Ed.). Boston.
- Nanjan, M. J., Mohammed, M., Prashantha Kumar, B. R., & Chandrasekar, M. J. N. (2018). Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. *Bioorg Chem*, 77, 548-567. doi:10.1016/j.bioorg.2018.02.009
- Naskar, A. K., Ray, S., Parui, S. M., & Mondal, A. K. (2019). Studies on an in-vitro Investigation of Anti Diabetic Property of a Hemiparasitic Taxa *Dendrophthoe*

- falcata (L.f.) Ettingsh (Loranthaceae). *Pharmacognosy Journal*, 11(4), 699-704. doi:10.5530/pj.2019.11.111
- Nazaruk, J., & Borzym-Kluczyk, M. (2015). The role of triterpenes in the management of diabetes mellitus and its complications. *Phytochem Rev*, 14(4), 675-690. doi:10.1007/s11101-014-9369-x
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod*, 83(3), 770-803. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b01285
- NOM-015-SSA2-2010, S. d. s. (2010). NOM-015-SSA2-2010. *Norma Oficial Mexicana, Recuperado el 16 de Noviembre de 2021*. Retrieved from https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074&fecha=23/11/2010
- Onal, S., Timur, S., Okutucu, B., & Zihnioglu, F. (2005). Inhibition of alpha-glucosidase by aqueous extracts of some potent antidiabetic medicinal herbs. *Prep Biochem Biotechnol*, 35(1), 29-36. doi:10.1081/PB-200041438
- Orhan, D. D., Aslan, M., Sendogdu, N., Ergun, F., & Yesilada, E. (2005). Evaluation of the hypoglycemic effect and antioxidant activity of three *Viscum album* subspecies (European mistletoe) in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 98(1-2), 95-102. doi:10.1016/j.jep.2004.12.033
- Osadebe, P., Odoh, E., & Uzor, P. (2014). Natural Products as Potential Sources of Antidiabetic Drugs. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4(17), 2075-2095. doi:10.9734/bjpr/2014/8382
- Ovalle-Magallanes, B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., & Mata, R. (2015). Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of phytopreparations and limonoids from *Swietenia humilis*. *Phytochemistry*, 110, 111-119. doi:10.1016/j.phytochem.2014.11.004
- Park, J. H., Kim, Y. N., Kim, J. K., Park, H. Y., & Song, B. S. (2019). Viscothionin purified from mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum* Ohwi) induces insulin secretion from pancreatic beta cells. *J Ethnopharmacol*, 234, 172-179. doi:10.1016/j.jep.2019.01.014
- Peng, Y., Gan, R., Li, H., Yang, M., McClements, D. J., Gao, R., & Sun, Q. (2021). Absorption, metabolism, and bioactivity of vitexin: recent advances in understanding the efficacy of an important nutraceutical. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 61(6), 1049-1064. doi:10.1080/10408398.2020.1753165
- Peng, Y., Sun, Q., Xu, W., He, Y., Jin, W., Yuan, L., & Gao, R. (2019). Vitexin ameliorates high fat diet-induced obesity in male C57BL/6J mice via the AMPKalpha-mediated pathway. *Food Funct*, 10(4), 1940-1947. doi:10.1039/c9fo00148d
- Proenca, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Oliveira, E. F. T., Sousa, J. L. C., Tome, S. M., . . . Fernandes, E. (2017). alpha-Glucosidase inhibition by flavonoids: an in vitro and in silico structure-activity relationship study. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 32(1), 1216-1228. doi:10.1080/14756366.2017.1368503
- Raceline, G. K., Aubin, N. K. B., Jaures, T. N. M., Ducos, Y. F., Florence, N. T., Desire, D. D. P., . . . Véronique, P. B. (2019). Anti-inflammatory potential of *Tapinanthus globiferus* (Loranthaceae) leaves as an alternative treatment against arthritis.

- The Journal of Phytopharmacology*, 8(3), 96-103.
doi:10.31254/phyto.2019.8303
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., . . . Committee, I. D. F. D. A. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition. *Diabetes Res Clin Pract*, 157, 107843. doi:10.1016/j.diabres.2019.107843
- Samuel, V. T., & Shulman, G. I. (2016). The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest*, 126(1), 12-22. doi:10.1172/JCI177812
- Sangwung, P., Petersen, K. F., Shulman, G. I., & Knowles, J. W. (2020). Mitochondrial Dysfunction, Insulin Resistance, and Potential Genetic Implications. *Endocrinology*, 161(4). doi:10.1210/endocr/bqaa017
- Shanmugam, S., Thangaraj, P., Lima, B. D. S., Chandran, R., de Souza Araujo, A. A., Narain, N., . . . Junior, L. J. Q. (2016). Effects of luteolin and quercetin 3-beta-d-glucoside identified from *Passiflora subpeltata* leaves against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother*, 83, 1278-1285. doi:10.1016/j.biopha.2016.08.044
- Song, C., Wang, W., Xue, Z., Peng, H., & Yang, B. (2022). Characterization of the Interaction between *Viscum coloratum* (Mistletoe) and Its Host by Ultra-High Performance Liquid Chromatography–Quadrupole–Time-of-Flight–Mass Spectrometry (UPLC/Q-TOF-MS)-Based Metabolomics. *Analytical Letters*, 1-16. doi:10.1080/00032719.2022.2065284
- Sun, C., Zhao, C., Guven, E. C., Paoli, P., Simal-Gandara, J., Ramkumar, K. M., . . . Xiao, J. (2020). Dietary polyphenols as antidiabetic agents: Advances and opportunities. *Food Frontiers*, 1(1), 18-44. doi:10.1002/fft2.15
- Szurpnicka, A., Kowalczyk, A., & Szerk, A. (2020). Biological activity of mistletoe: in vitro and in vivo studies and mechanisms of action. *Arch Pharm Res*, 43(6), 593-629. doi:10.1007/s12272-020-01247-w
- Vázquez Collazo, I., Villa Rodríguez, A., & Madrigal Huendo, S. . (2006). *Los muerdagos (Loranthaceae) en Michoacán. Uruapán, Michoacán* (A. y. P. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Ed.).
- Virally, M., Blickle, J. F., Girard, J., Halimi, S., Simon, D., & Guillausseau, P. J. (2007). Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes Metab*, 33(4), 231-244. doi:10.1016/j.diabet.2007.07.001
- Vittorazzi, C., Endringer, D. C., Andrade, T. U., Scherer, R., & Fronza, M. (2016). Antioxidant, antimicrobial and wound healing properties of *Struthanthus vulgaris*. *Pharm Biol*, 54(2), 331-337. doi:10.3109/13880209.2015.1040515
- Wu, H., Zhang, G., Huang, L., Pang, H., Zhang, N., Chen, Y., & Wang, G. (2017). Hepatoprotective Effect of Polyphenol-Enriched Fraction from *Folium Microcos* on Oxidative Stress and Apoptosis in Acetaminophen-Induced Liver Injury in Mice. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 3631565. doi:10.1155/2017/3631565

- Wu, T., Li, J., Li, Y., & Song, H. (2017). Antioxidant and Hepatoprotective Effect of Swertiamarin on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity via the Nrf2/HO-1 Pathway. *Cell Physiol Biochem*, 41(6), 2242-2254. doi:10.1159/000475639
- Xiao, J., Capanoglu, E., Jassbi, A. R., & Miron, A. (2016). Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56 Suppl 1, S29-45. doi:10.1080/10408398.2015.1067595
- Xu, L., Li, Y., Dai, Y., & Peng, J. (2018). Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. *Pharmacol Res*, 130, 451-465. doi:10.1016/j.phrs.2018.01.015
- Yara S. Beyh, K. M. V. N. (2021). Diabetes mellitus: etiology and epidemiology,. *Reference Module in Food Science, Elsevier*.,. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821848-8.00006-8>.
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*, 14(2), 88-98. doi:10.1038/nrendo.2017.151

ANEXO A

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Cuadro 1. Clasificación de la diabetes con base en su etiología. | 2 |
| Cuadro 2. Principales fármacos utilizados para el tratamiento de la DMTII. | 9 |
| Cuadro 3. Actividad antidiabética de los metabolitos secundarios. | 11 |
| Cuadro 4. Actividad biológica de metabolitos secundarios de especies del género <i>Struthanthus</i> . | 14 |
| Cuadro 5. Clasificación taxonómica de <i>Struthanthus quercicola</i> . | 19 |
| Cuadro 6. Extractos acuosos de <i>S. quercicola</i> . | 20 |
| Cuadro 7. Concentraciones utilizadas en la determinación de IC ₅₀ . | 22 |
| Cuadro 8. Curva de glucosa para la determinación de la dosis de insulina, glicemia > 200 mg/dL pero < 350 mg/dL en ratas con diabetes inducida por STZ. | 26 |
| Cuadro 9. Parámetros de referencia para el análisis hepatotóxico en ratas <i>Wistar</i> macho. | 29 |
| Cuadro 10. Claves de las extracciones orgánicas de <i>S. quercicola</i> recolectado de <i>Citrus</i> sp. | 31 |
| Cuadro 11. Estándares para el análisis y cuantificación de metabolitos secundarios. | 34 |

ANEXO B

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 1. Porcentaje de fármacos procedentes de fuentes naturales. | 10 |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 2. Estructura química de los metabolitos secundarios aislados del género <i>Struthanthus</i> . | 13 |
| Figura 3. Mecanismos de acción antidiabética conocidos de los muérdagos. | 15 |
| Figura 4. Diagrama general de trabajo. | 18 |
| Figura 5. Reacción en la medición de la actividad enzimática con el método TGO. | 21 |
| Figura 6. Procedimiento experimental de la evaluación del efecto agudo. | 24 |
| Figura 7. Evaluación del efecto agudo mediante curvas de tolerancia en ayuno. | 25 |
| Figura 8. Establecimiento del modelo biológico de DT2 en ratas con diabetes inducida por STZ. | 27 |
| Figura 9. Tratamientos para la evaluación del efecto subcrónico de las decocciones de <i>S. quercicola</i> en ratas <i>Wistar</i> . | 28 |
| Figura 10. Evaluación del efecto subcrónico y del efecto hepatotóxico | 29 |
| Figura 11. Procedimiento experimental llevado a cabo en el estudio fitoquímico de <i>S. quercicola</i> para la identificación de metabolitos secundarios con actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa | 30 |

GLOSARIO

Dioicas: Tipo de sexualidad en las plantas, referente a unisexual o bisexual.

Endofítico: Definición literal, dentro de la planta. Propiedad de un organismo para subsistir dentro de una planta.

Endosperma: Tejido importante en la semilla que proporciona nutrientes al embrión y a las primeras fases del desarrollo de la planta.

Epífitas: Plantas que crecen sobre otro vegetal u objeto usándolo solamente como soporte (parasitosis mecánica), pero que no lo parasita nutricionalmente.

Escandentes: Trepadoras.

Extractos naturales: Son productos obtenidos a partir de productos de origen animal, vegetal o microbiano, con solventes permitidos.

Euglicémico: Estado normoglucémico, concentración normal de glucosa en sangre.

Fitoquímica: Disciplina científica que tiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales.

Foliadas: Disposición que mantienen las hojas respecto a las otras cuando están de las yemas, en la foliación las hojas no se tocan. Sinónimo de estivación.

Glucogénesis: Ruta anabólica por la que tiene lugar la síntesis de glucógeno (también llamado glicógeno) a partir de un precursor más simple, la glucosa-6-fosfato. Se lleva a cabo principalmente en el hígado, y en menor medida en el músculo.

Glucogenólisis: Es un proceso catabólico y hace referencia a la degradación de glucógeno a glucosa o glucosa-6-fosfato.

Gluconeogénesis: Ruta metabólica anabólica que permite la biosíntesis de glucosa a partir de precursores no glucídicos.

Hemiparásita: Plantas que dependiendo de las condiciones en las que se encuentra, puede comportarse como parásita o epífita.

Hiperinsulinemia: Estado clínico donde la cantidad de insulina en sangre es mayor a la normal.

Inflorescencias: Ramas del tallo con crecimiento limitado, portadoras de flores.

K: Elemento químico, Potasio.

Leprechaunismo: Forma congénita de resistencia extrema a la insulina.

Metabolito secundario: Compuestos orgánicos producidos por bacterias, hongos o plantas, los cuales no están directamente involucrados en el crecimiento, desarrollo o reproducción normal del organismo.

Na: Elemento químico, Sodio.

Patogénesis: Proceso por el cual se desarrolla una enfermedad o trastorno.

Polidipsia: Sed en exceso.

Polifagia: Comer en exceso.

Poliuria: Es un gasto urinario excesivo.

Proteína G: **Proteína** fijadora de nucleótido de **Guanina**) son una familia de proteínas transductores de señales desde el receptor al que están acopladas hasta una o más proteínas efectoras y dependen del nucleótido guanosin-trifosfato (GTP) para su activación.

Receptores de adenosina: Son una familia de proteínas G acopladas a los receptores A1, A2A, A2B y A3, distribuidos ampliamente en casi todos los tejidos del cuerpo humano.

Síndrome de "stiff-man": También conocido como síndrome de la persona rígida. Se caracteriza por un cuadro de rigidez muscular y espasmos, generalmente de carácter axial.

Spliceforma: Forma de empalme de una proteína.

Subcrónico: Contacto entre un agente químico, físico o biológico y un organismo por un período intermedio de tiempo (normalmente, semanas o meses).

Transactivación génica: Incremento en la tasa de expresión génica debida a determinados procesos biológicos o bien de un modo artificial

Vacor: Raticida asociado a la cetoacidosis diabética aguda.

Vector: Cualquier organismo que transporta y transmite a otro organismo vivo un microorganismo causante de enfermedades (agente patógeno).