



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE
TABASCO**



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS

**“ESTUDIO BIODIRIGIDO DE LA ESPECIE VEGETAL *Citrullus
lanatus* CON EFECTO ANTIDIABETICO”**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN QUÍMICA APLICADA

PRESENTA:

L.Q. ERICK ARMANDO ESCOBAR ESCOBAR

DIRECTORES DE TESIS:

DR. CÉSAR MANUEL LANDA PINEDA

DR. OSWALDO IGNACIO HERNÁNDEZ ABREU

ASESOR EXTERNO

DR. MANASÉS GONZALES CORTAZAR

Cunduacán, Tabasco, enero del 2021



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias
Básicas



DIRECCIÓN

20 de enero de 2021

**LIC. ERICK ARMANDO ESCOBAR ESCOBAR
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN QUÍMICA APLICADA
P R E S E N T E.**

Por medio de la presente y de la manera más atenta, me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado "**ESTUDIO BIODIRIGIDO DE LA ESPECIE VEGETAL *Citrullus lanatus* CON EFECTO ANTIDIABÉTICO**" en virtud de que reúne los requisitos para el EXAMEN PROFESIONAL para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Química Aplicada.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE


**DR. GERARDO DELGADILLO PIÑÓN
DIRECTOR**

Dr'GDP/M.C.'NLBA

C.c.p.- Archivo.

CARTA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de grado denominada "**ESTUDIO BIODIRIGIDO DE LA ESPECIE VEGETAL *Citrullus lanatus* CON EFECTO ANTIDIABÉTICO**", de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 25 días del mes de enero del año 2021.

AUTORIZÓ



ERICK ARMANDO ESCOBAR ESCOBAR

172A27001

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por otorgarme acceso a sus instalaciones para desarrollar el proyecto.

A mis asesores el Dr. Cesar Manuel Landa Pineda y el Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu por su dirección para concretar este trabajo de investigación, a quienes agradezco grandemente por sus consejos, paciencia, entusiasmo y dedicación.

Parte de este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Fitoquímica del Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS), Xochitepec Morelos dependiente del Instituto Mexicano del Seguro Social, bajo la dirección del Dr. Manasés González Cortázar.

Parte del trabajo fue realizado en el Laboratorio de farmacología de la Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa (UAM-IZTAPALAPA) en colaboración con el Dr. Julio César Almanza Pérez, el Dr. Edgar Iván Jasso Villagómez y el M.C. Abraham Giacoman Martínez.

A la Dra. Nelly Jiménez Pérez por la identificación de la especie vegetal fue realizada en el herbario de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol).

Agradezco el apoyo proporcionado por el CONACYT mediante el programa de posgrado de Maestría en Ciencias en Química Aplicada por el cual me fue posible realizar mi estancia.

Al Dr. Julio César Almanza Pérez, el Dr. Edgar Iván Jasso Villagómez y el M.C. Abraham Giacoman Martínez agradezco grandemente el apoyo y las facilidades brindadas en la UAM-IZTAPALAPA y al Dr. Manasés Gonzales Cortazar por parte del CIBIS.

A la comisión revisora: Dr. César Manuel Landa Pineda, Dr. Miguel Ángel Vilchis Reyes, Dr. Omar Aristeo Peña Morán, M.F. Litzia Christell Cerón Romero, Dr. Ever Arquímedes Blé González por su influencia positiva en la versión final del documento.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Diabetes <i>mellitus</i>	5
2.2 Clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus.....	6
2.3 Síntomas y complicaciones de la diabetes mellitus.....	8
2.4 Fisiopatología y tratamientos de la DM.....	15
2.5 Tratamiento no farmacológico.....	16
2.6 Tratamiento farmacológico.....	17
2.6.1 Insulina y análogos.....	17
2.6.2 Fármacos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2.....	20
2.6.3 Sulfonilureas.....	21
2.6.4 Meglitinidas.....	22
2.6.5 Biguanidas.....	23
2.6.6 Inhibidores de las α -glucosidasas.....	24
2.6.7 Glucosúricos: Inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT-2).....	25
2.6.8 Tiazolidinedionas o glitazonas.....	27
2.6.9 Incretinas.....	28
2.6.10 Secretagogos de insulina que intensifican las señales del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1R).....	29
2.6.11 Inhibidores de la dipeptidil-peptidasa-4 (DPP-4).....	30
2.6.12 Agonistas de la amilina.....	30
2.6.13 Otros fármacos inicialmente usados para otras patologías.....	30
2.6.13.1 Secuestradores de los ácidos biliares.....	30
2.6.13.2 Agonistas de receptores D2 dopaminérgicos.....	31
2.7 Productos naturales para el tratamiento de la diabetes mellitus.....	31
2.8 <i>Citrullus lanatus</i> (sandía).....	34
2.8.1 Usos en la medicina tradicional.....	34
2.8.2 Antecedentes farmacológicos.....	35

2.8.3 Antecedentes fitoquímicos.....	35
3. OBJETIVO GENERAL.....	37
3.1 Objetivos particulares	38
4. HIPÓTESIS.....	39
5. JUSTIFICACIÓN.....	40
6. METODOLOGÍA.....	41
6.1 Recolección del material vegetal	41
6.2 Preparación de los extractos	42
6.3 Extracción soxhlet.....	43
6.4 Separación cromatográfica	44
6.5 Determinación del efecto hipoglucemiante en ratones normoglucémicos.....	46
6.6 Determinación del efecto antidiabético en ratones administrados con aloxano	48
6.7 Datos y análisis	49
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES	50
7.1 Obtención de los extractos	50
7.2 Análisis hipoglucemiante en ratones normoglucémicos	50
7.2 Análisis cromatográfico	57
7.4 Determinación del efecto antidiabético en ratones administrados con aloxano	61
8. CONCLUSIONES.....	64
9. PERSPECTIVAS.....	65
10. BIBLIOGRAFIA.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Diagnóstico para la diabetes mellitus; tomado de ¹⁹	4
Tabla 2.2 Tipos de diabetes; tomado de ^{2,19}	4
Tabla 2.3 Características etiológicas de diabetes mellitus (homeostasis de la glucosa); modificado de ^{21,22}	6
Tabla 2.4 Objetivos terapéuticos en la diabetes mellitus ^{3,14,24}	7
Tabla 2.5 Complicaciones patológicas de la DM ²²	7
Tabla 2.6 Clasificación de los diferentes tipos de hiperglucemias causadas por diversas mutaciones genéticas ligadas a un proceso patológico ^{1,16,18}	11
Tabla 2.7 Efectos hipoglucemiantes de la insulina ³⁵	15
Tabla 2.8 Compuestos con acción antidiabética aislados de especies vegetales ⁵⁴	26
Tabla 7.1 Rendimiento de extractos	43
Tabla 7.2 Fracciones obtenidas de la columna cromatográfica de EMCs	44
Tabla 7.3 Análisis cromatográfico de la columna para EMCs	44
Tabla 7.4 Fracciones de la columna EHCc	47
Tabla 7.5 Análisis cromatográfico columna EHCc	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Complicaciones relacionadas a la aterosclerosis, resistencia a la insulina y la DM. Tomado de ²	13
Figura 2.2 Mecanismo de secreción de la insulina de la célula α -pancreática ²²	15
Figura 2.3 A) Estructura proteica de la insulina humana: cadena α de 21 aminoácidos, cadena β de 30 aminoácidos ³ ; B) estructura secundaria de la insulina humana. ³⁵	18
Figura 2.4 Estructura de una sulfonilurea, la glibenclamida.....	21
Figura 2.5 Mecanismo de acción de las sulfonilureas. Tomado de ⁵⁶	22
Figura 2.6 Estructura de la repaglinida, como se observa no contiene sulfonilos por lo que la diferencia de las sulfonilureas	23
Figura 2.9 Mecanismo de acción de los inhibidores de las α glucosidasas, se muestra el fármaco acarbosa como ejemplo. Tomado de ⁵⁸	25
Figura 2.10 Mecanismo de acción de los SGLT-2. Tomado de ⁶⁰	26
Figura 2.11 Mecanismo de acción de las glitazonas.....	27
Figura 2.12 Mecanismo de acción de las incretinas (GLP-1, GIP). CAMP monofosfato de adenosina cíclico, ATP trifosfato de adenosina, PKA proteína quinasa A	28
Figura 2.13 Hojas y fruto de Citrullus lanatus.....	34
Figura 6.1 Metodología general para el desarrollo del proyecto.....	41
Figura 6.2 a) Lugar de recolección del material vegetal utilizado para identificación y experimentación, b) Frutos de sandía utilizados.....	42

Figura 6.3 a) cáscara de sandía seca, b) semillas de sandía secas.....	42
Figura 6.4 Metodología general de la preparación del material vegetal.....	43
Figura 6.5 Metodología general para el proceso de extracción Soxhlet.....	43
Figura 6.6 Extracción continua soxhlet empleada en la metodología.....	44
Figura 6.7 Procedimiento general para el análisis cromatográfico del EMCIs.....	45
Figura 6.8 Procedimiento general para el análisis del EHCic	46
Figura 6.9 Grupos formados y dosis administradas (i.p.) en análisis hipoglucemiante, donde se usaron los extractos y fracciones.....	47
Figura 6.10 Grupos formados y dosis administradas (i.p.) en el análisis antidiabético	48
Figura 7.2 a) reuniones 6-8, sistema Hex/Ac.Et 90:10 (GB: glucósido de β -sitosterol), observadas en onda larga (365nm). b) reuniones 12-15 sistema Hex/Ac.Et 70:30, observadas en onda larga (365nm).....	60

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 7.1 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMCls.....	51
Gráfica 7.2 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHClc	52
Gráfica 7.3 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHCls	53
Gráfica 7.4 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMClc.....	53
Gráfica 7.5 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHClcR8	54
Gráfica 7.6 5Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHClcR13.....	55
Gráfica 7.7 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMClsR5.....	56
Gráfica 7.8 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMClsR8.....	57
Gráfica 7.9 Curva dosis-respuesta del efecto antidiabético del EMClsR5	62
Gráfica 7.10 Curva dosis-respuesta del efecto antidiabético del EMCls	62
Gráfica 7.11 Curva dosis-respuesta del efecto antidiabético del EHClc.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

2-h PG: Test de 2-h de glucosa en plasma
ACTH: hormona adrenocorticotropa
AMPK α : proteína quinasa activada por AMP
Complex 1: NADH deshidrogenasa
DM: diabetes *mellitus*
FNT α : factor de necrosis tumoral alfa
FPG: glucosa plasmática en ayunas
GCK: glucocinasa
HDL: lipoproteína de alta densidad
HNF1b: factor nuclear de hepatocitos 1b
HNF4A: factor nuclear de hepatocitos 4^a
IL-1: interleucina 1
IL-6: interleucina 6
IPF1: factor del promotor insulínico 1
LDL: lipoproteína de baja densidad
Lp(a): lipoproteína a
mGPDH: mitocondrial glicerol-3-fosfato deshidrogenasa
MIDD: diabetes y sordera heredadas de la madre
MODY: Diabetes del adulto de inicio juvenil
NEUROD1: diferenciación neurógena 1
NF-KB: factor nuclear kappa beta
OCT-1: transportadores catiónicos
OGTT: Prueba oral de tolerancia a la glucosa con 75 g
PCR proteína C reactiva
PSAA: proteína de superficie
PTP1B - Proteína Fosfatasa de Tirosina
SIRT1: sirtuína-1 deacetilasa dependiente de NAD
VLDL: proteína de muy baja densidad

RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica metabólica de la cual, su principal característica es una hiperglucemia crónica (niveles de glucosa más altos que los normales por periodos prolongados). De acuerdo a la Federación Mexicana de Diabetes, afecta a 425 millones de personas en el mundo y es la segunda causa de muerte en México, con un índice de mortalidad de 15.4% en 2016. Puesto que se considera como un conjunto de afecciones, la DM no presenta un tratamiento curativo o definitivo y cuando no se logra su control se generan diversas complicaciones que pueden concluir en muerte. Es por ello que se deben desarrollar nuevas estrategias de tratamientos con fármacos dentro de las cuales podemos señalar los de origen natural y particularmente los obtenidos de las plantas medicinales que, aunque en algunos casos se desconocen la mayoría de sus compuestos activos, siguen siendo usados en la medicina tradicional debido a los efectos adversos mínimos y a sus bajos costos. En el periodo 1970–2006 existían 1184 entidades químicas provenientes de productos naturales aprobadas como medicamentos, lo que demuestra la importancia de la fitoquímica y la farmacognosia. Las semillas de la planta *Citrullus lanatus* se usan en medicina tradicional en países africanos para tratar la diabetes, estudios farmacológicos previos demostraron actividad antihiperglucemiante de los extractos etanólicos. Por lo anterior, en esta tesis se evaluó la posible actividad hipoglucemiante de extractos de semilla y cáscara de *Citrullus lanatus* en un modelo murino de diabetes.

En este trabajo se determinó la actividad hipoglucemiante en ratones CD-1 normoglucémicos y diabetizados con aloxano (una sola dosis de 100 mg/kg), se administraron extractos metanólicos y hexánicos de cáscara y semilla *C. lanatus* y se usó como control glibenclamida. Se realizaron pruebas estadísticas de ANOVA de una vía con los resultados de las pruebas hipoglucemiantes tanto en el estudio normoglucémico como en el antidiabético, en los cuales se observó que los extractos metanólicos de la semilla presentaron potencia similar al fármaco control. Los extractos metanólicos de la semilla mostraron potencial como hipoglucemiante al comparar con la glibenclamida.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease of which its main characteristic is chronic hyperglycemia (glucose levels higher than normal for long periods of time). According to the Mexican Diabetes Federation, it affects 425 million people in the world and is the second cause of death in Mexico, with a mortality rate of 15.4% in 2016. Since it is considered as a group of conditions, the DM does not present a curative or definitive treatment and when its control is not achieved, various complications are generated that can end in death. That is why new drug treatment strategies must be developed within which we can point out those of natural origin and particularly those obtained from medicinal plants that, although in some cases most of their active compounds are unknown, they are still used in traditional medicine due to minimal adverse effects and low costs. In the period 1970–2006 there were 1,184 chemical entities from natural products approved as drugs, demonstrating the importance of phytochemistry and pharmacognosy. The seeds of the *Citrullus lanatus* plant are used in traditional medicine in African countries to treat diabetes, previous pharmacological studies demonstrated antihyperglycemic activity of ethanolic extracts. Therefore, in this thesis the possible hypoglycemic activity of *Citrullus lanatus* seed and peel extracts in a murine model of diabetes was evaluated.

In this work, hypoglycemic activity was determined in CD-1 normoglycemic mice diabetized with alloxane (a single dose of 100 mg / kg), methanolic and hexane extracts of *C. lanatus* shell and seed were administered and glibenclamide was used as a control. One-way ANOVA statistical tests were performed with the results of the hypoglycemic tests in both the normoglycemic and the antidiabetic studies, in which it was observed that the methanolic extracts of the seed presented similar potency to the control drug. The methanolic extracts of the seed showed potential as a hypoglycemic agent when compared to glibenclamide.

1. INTRODUCCIÓN

La DM es un conjunto de enfermedades metabólicas complejas con diversas variables de predisposición hereditaria y con intervención de diversos factores ambientales.¹⁻⁴ Se caracteriza por una hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción y/o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas; la hiperglucemia a largo plazo, se asocia con daño, disfunción y falla de varios órganos y sistemas, especialmente de riñones, ojos, nervios, corazón y vasos sanguíneos.^{1,2} Puede ocasionar síntomas como polidipsia, poliuria y pérdida de peso, al igual que complicaciones agudas (cetoacidosis) y a largo plazo ocasiona complicaciones macrovasculares (enfermedad coronaria, vascular cerebral y arterial periférica), microvasculares (retinopatía, nefropatía) y neuropatías.⁵

Las personas afectadas por esta enfermedad aumentó de 425 millones a 463 millones de individuos en el mundo en los años 2017-2019 según datos de la federación internacional de diabetes;^{6,7} es la segunda causa de muerte con un índice de mortalidad de 15.4% en 2016 según datos de la Federación Mexicana de Diabetes,⁸ la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) indica que el porcentaje de incidencia para hombres y mujeres de 9.1% y 11.4% respectivamente en 2018.⁹

Puesto que se considera como un conjunto de afecciones, la DM no cuenta con un tratamiento curativo o definitivo y cuando no se logra su control se generan diversas complicaciones que pueden concluir en la muerte de la persona.¹⁰ Dichos tratamientos consisten en medicamentos sintéticos que, en un largo periodo, pueden ocasionar efectos secundarios. Es por ello, que se han desarrollado nuevas estrategias de tratamiento de las enfermedades, estos tratamientos incluyen fármacos de origen natural como son los obtenidos de plantas que son considerados menos tóxicos comparados con los sintéticos. Aunque se desconocen la mayoría de los compuestos activos de muchas plantas medicinales,¹¹ un buen tratamiento de la diabetes consistiría en la modificación de los hábitos de vida, combinando el ejercicio físico con una alimentación adecuada. Una posible contribución a dicha alimentación puede basarse en la inclusión de alimentos funcionales que contengan moléculas que, sin afectar al apetito, contribuyan a mejorar las alteraciones funcionales y metabólicas características de este síndrome. Este podría ser el caso de distintos flavonoides en la dieta, que han manifestado numerosas acciones beneficiosas para la salud, entre las que se encuentran efectos antidiabéticos.

La especie vegetal *Citrullus lanatus* (sandía) se usa en medicina tradicional como tratamiento para la diabetes,¹¹ infecciones de las vías urinarias, hipertensión, entre otras;¹² por lo que en la presente investigación se propone evaluar extractos de *C. lanatus* en un modelo murino normoglucémico y de diabetes.

2. ANTECEDENTES

2.1 Diabetes mellitus

De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA) la DM es un conjunto de enfermedades metabólicas que se caracterizan por el incremento de la glucosa plasmática, lo que resulta de la alteración en la secreción de la insulina, su acción disminuida o de ambas;² también se considera a la DM como una enfermedad crónico degenerativa;¹³ hay factores como el sobrepeso y la obesidad asociados con elementos ambientales, nula actividad física, alimentación inadecuadas, valores anormales de glucosa en ayuna y resistencia a la insulina que aumentan su prevalencia.¹⁴ Por crónico degenerativa se entiende que la diabetes es una enfermedad no curable, que, si no es diagnosticada y controlada de manera oportuna, adecuada e integral, puede afectar a los demás órganos; altera las funciones metabólicas normales del organismo, ocasionando un deterioro anormal o prematuro. Esto ocasiona una serie de complicaciones de gran costo e impacto en la salud de la persona, así como una baja calidad de vida o la muerte.¹⁵

La DM es considerada un problema a nivel mundial, se considera un reto de salud pública¹⁵ ya que en el mundo existen 463 millones de personas con DM según la Federación Internacional de Diabetes (IDF) hasta el 2019.⁷ En México es considerada la segunda causa de muerte con un 15.4% de índice de mortalidad hasta 2016 según la Federación Mexicana de Diabetes (FMD).⁸ Hasta noviembre del 2018 en el estado de Tabasco se reportaron 13,724 nuevos casos diagnosticados de DM.¹⁶

Estas cifras son alarmantes, pero dos factores más preocupantes son su diagnóstico y control. En México el primer nivel de atención para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la DM está basado los estándares establecidos en la NOM-015-SSA2-2018.^{1,17}

El Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) realizó un estudio en la ciudad de México en 2015 en el cual se encontró que 29% de los pacientes con DM son diagnosticados en etapas

avanzadas de la enfermedad aumentando sus complicaciones; además se encontró que únicamente 16% de quienes tienen diabetes se encuentran con un control adecuado, explicando la tan alta mortalidad que ocasiona.¹⁵

2.2 Clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus

La principal característica de la DM es la hiperglucemia crónica,¹⁵ resultante de defectos en la acción de la insulina,¹³ causada por una alteración en la función endócrina del páncreas o por la alteración en los tejidos efectores que pierden sensibilidad a la insulina.^{18,19}

Para clasificar adecuadamente a cada paciente en un tipo de diabetes, es necesario un diagnóstico correcto. Gracias a los avances en investigación, se conocen defectos a nivel celular, tejido o función de expresión relacionadas con esta enfermedad que permiten un mejor diagnóstico del paciente.

La ADA indica 4 criterios para diagnosticar la DM (tabla 2.1), así como sus tipos de acuerdo a su origen y las condiciones mediáticas que pueden dar como resultado una diabetes (Tabla 2.2).

Tabla 2.1 Diagnóstico para la diabetes mellitus. Tomado de ²⁰

Criterios para el diagnóstico de la diabetes mellitus	
1	FPG \geq 126 mg/dL. El ayuno se define como ingesta no calórica durante al menos 8 horas
2	2-h PG \geq 200 mg/dL durante el OGTT. La prueba debe realizarse con 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua, en ausencia de hiperglicemia inequívoca, los resultados se pueden confirmar repitiendo la prueba
3	Hemoglobina glucosilada, HbA1C \geq 6.5 %
4	En pacientes con síntomas clásicos de hiperglicemia o crisis de hiperglicemia, glucosa plasmática a cualquier hora del día \geq 200 mg/dL

FPG: glucosa plasmática en ayunas
 2-h PG: Test de 2-h de glucosa en plasma
 OGTT: Prueba oral de tolerancia a la glucosa con 75 g

Debido a que la diabetes se caracteriza por causas heterogéneas, en la práctica clínica, es importante darle una clasificación para su adecuado tratamiento o a su vez, para el establecimiento de nuevos tratamientos que contrarresten en mejor manera a la DM.

Tabla 2.2 Tipos de diabetes. Tomado de ^{2,20}

Diabetes tipo 1 (insulinodependiente)	Debido a la destrucción autoinmune de células β , que generalmente conduce a una deficiencia absoluta de insulina
Diabetes tipo 2 (no insulinodependiente) <ul style="list-style-type: none"> • DM no asociado a la obesidad • DM asociado a la obesidad 	Debido a la pérdida progresiva de la secreción de insulina de las células β con frecuencia teniendo como antecedente la resistencia a la insulina
Diabetes mellitus gestacional	Diagnosticada en el segundo o tercer trimestre del embarazo, la diabetes no es claramente evidente antes de la gestación
Tipos específicos de diabetes debido a otras causas	<ul style="list-style-type: none"> a. <i>Defectos genéticos</i>: desde alteraciones de las propias células pancreáticas y el metabolismo de la glucosa hasta defectos genéticos de la acción de la insulina (mutaciones en los receptores de la insulina) b. <i>Diabetes neonatal</i> (transitoria, permanente) c. <i>Enfermedad del páncreas exocrino</i> (fibrosis quística, pancreatitis) d. <i>Endocrinopatías</i>: (acromegalia, síndrome de Cushing, feocromocitoma, hipertiroidismo) e. Infecciones (rubeola) f. Formas no usuales de diabetes por mediación inmune (anticuerpos contra los receptores insulínicos) g. Síndromes genéticos ocasionalmente relacionados con diabetes (síndrome de Down, Turner, corea de Huntington)

La DM tipo 1 (que representa el 5-8% de los casos) con déficit absoluto en la secreción de insulina y la DM tipo 2 (que representa el 90% de los casos) causada por resistencia a la insulina y/o inadecuada respuesta secretora, constituyen las principales categorías etiopatogénicas;^{3,21} en México la DM tipo 2 (no insulinodependiente) es la más común.¹⁷

En los casos de DM, el individuo atraviesa fases de alteración de la tolerancia a la glucosa, hasta que la diabetes se manifiesta. La ADA en 2014 estableció una clasificación etiológica

de la DM²² la cual se muestra en la Tabla 2.3 que representa las alteraciones homeostáticas de la glucosa a lo largo de los años en un paciente diabético.

Las flechas indican que, para la DM tipo 1 es necesaria la administración de insulina en el paciente para poder sobrevivir; en la DM tipo 2 las variaciones en la tolerancia a la glucosa pueden ser bidireccionales, por ejemplo, los individuos con DM tipo 2 pueden volver a la categoría de alteración de la tolerancia a la glucosa; en la diabetes gestacional, la diabetes puede pasar a una alteración de la tolerancia a la glucosa o incluso a tolerancia normal a la glucosa después del parto.^{20,22}

Tabla 2.3 Características etiológicas de diabetes mellitus. Modificado de ^{22,23}

Etapas Tipos	Normogluemia		Hiperglicemia		
	Regulación normal de la glucosa	Intolerancia a la glucosa o intolerancia alterada a la glucosa en ayunas (prediabetes)	Diabetes mellitus		
			No requiere insulina	Requiere insulina para su control	Requiere insulina para sobrevivir
Tipo 1	→				
Tipo 2	←→				
Diabetes gestacional	←→				
Tiempo (años)	→				

2.3 Síntomas y complicaciones de la diabetes mellitus

En la práctica clínica, existen mediciones que indican una posible patología de DM, tales como un valor alterado de glucosa en ayuno (límite máximo 126 mg/dL), cuantificación de ≥ 200 mg/dL 2 horas después de realizar la prueba de tolerancia oral con 75 g de glucosa, medición de la hemoglobina glucosilada entre 4-6% valores normales, esta mide la fracción de hemoglobina unida a glucosa e informa sobre los niveles de glucosa de los 2-3 meses anteriores, un índice de masa corporal (IMC) >23 en mujeres y >25 en hombres.²⁴ Por lo que se establecen objetivos terapéuticos deseables en cada paciente (Tabla 2.4).

Tabla 2.4 Objetivos terapéuticos en la diabetes mellitus. Modificado de ^{3,15,25}

Parámetro	Unidades	Objetivo terapéutico (control aceptable)	Requiere corrección (control inadecuado)
Glucemia basal y preprandial	mg/dL	80-110	>140
Glucemia postprandial (2 h)	mg/dL	100-180	>200
HbA1C	%	4-6	>7
Colesterol total	mg/dL	<200	>230
LDL-colesterol	mg/dL	<100	>130
HDL-colesterol	mg/dL	>40	<35
Triglicéridos	mg/dL	≤150	>200
Presión arterial (sistólica/diastólica)	mmHg	≤130/85	>140/90

Los factores de riesgo para el caso de la DM tipo 1 aún están en estudios, aunque se ha asociado a infecciones virales, factores medioambientales y a tener un familiar con este padecimiento. Para la DM tipo 2, se ha asociado a diversos factores de riesgo: predisposición genética, sobrepeso, inactividad física, presión arterial alta, origen étnico, antecedentes de diabetes gestacional, mujeres con hijos macrosómicos, síndrome de ovario poliquístico, alteración de la glucosa en ayunas, tolerancia a la glucosa alterada, así como enfermedades cardiovasculares y dislipidemias.²

En personas con DM se puede presentar una fase inicial asintomática o manifestaciones mínimas años antes de su diagnóstico. Sus síntomas son: pérdida de peso, fatiga, cambios en la agudeza visual y en algunos casos disestesias en las extremidades (alteración en la percepción de estímulos sensitivos principalmente el tacto),^{2,26} todos estos síntomas son causados directamente por la hiperglucemia (Tabla 2.5), además de la tríada clásica conocida como triple P: poliuria polidipsia, y polifagia.

- i. Poliuria: El paciente tiene necesidad de orinar con más frecuencia de lo que lo hacía. El mecanismo fisiológico de esta condición es: cuando hay glucosa plasmática en una cantidad mayor a la normal en los túbulos renales, se excede la capacidad de transportar la glucosa de regreso al plasma (transporte máximo, Tm de glucosa). Esta

alteración produce un incremento en la salida de agua, con lo cual aumenta la cantidad de orina.²

- ii. **Polidipsia:** La pérdida urinaria de agua favorece que se incremente la osmolaridad plasmática y se estimulen los osmorreceptores hipotalámicos que regulan la secreción de la hormona antidiurética e inducen la sed.²
- iii. **Polifagia:** Aun cuando se encuentran concentraciones altas de glucosa en el paciente diabético, el hecho de que no está llegando en forma adecuada a los diversos tejidos, genera que ciertas zonas del cerebro “reaccionen” como si estuvieran en inanición, lo que conduce a aumentar la ingestión de alimentos. Todo esto resulta en complicaciones graves como ceguera y pie diabético incluso, hasta la muerte.²

Tabla 2.5 Complicaciones patológicas de la DM. Tomado de ²³

Complicaciones relacionadas con la DM
Microvasculares, microangiopatías
Enfermedades oculares: Retinopatía (no proliferativa/proliferativa) Edema macular
Neuropatía Sensorial y motora Autónoma
Nefropatía (albuminuria y deterioro de la función renal)
Macrovasculares Coronariopatía Arteriopatía periférica Enfermedad vascular cerebral

Continuación tabla 2.5 Complicaciones patológicas de la DM. Tomado de ²³

Otras

Gastrointestinales (gastroparesia y diarrea)
Genitourinarias (uropatía/disfunción sexual)
Dermatológicas
Infecciosas
Cataratas
Glaucoma
Síndrome de movilidad articular limitada
Enfermedad periodontal
Pérdida de la audición
Otras condiciones comórbidas relacionadas con diabetes (donde la relación con hiperglucemia es incierta): depresión, apnea obstructiva del sueño, hígado graso, fracturas de la cadera, osteoporosis (en diabetes tipo 1), deterioro cognitivo o demencia y bajas concentraciones de testosterona

Durante la DM, la glucemia se eleva a valores anormales hasta alcanzar concentraciones nocivas para los sistemas fisiológicos, provocando serios daños en prácticamente todo el organismo completo, con un pronóstico letal si no se controla.^{19,27} Se pueden nombrar algunas complicaciones de la diabetes debido a la hiperglucemia, teniendo entonces las específicas (microangiopatías: retinopatía, nefropatía, y neuropatías), e inespecíficas (macroangiopatías: arteriopatía, cardiopatía isquémica, accidentes cerebrovasculares) conocidas también como complicaciones metadiabéticas (Figura 2.1).³

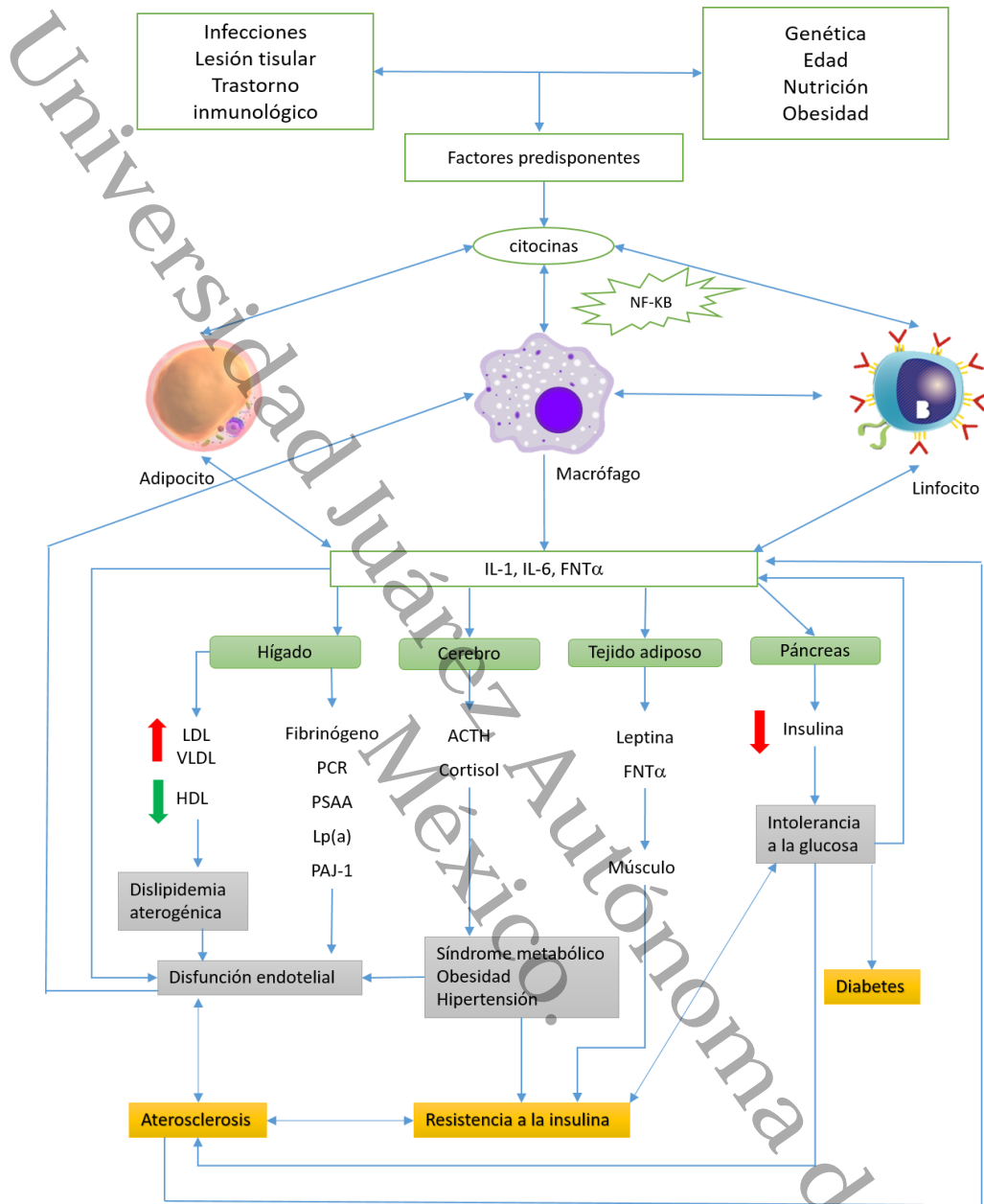
La *microangiopatía*, asociada con un engrosamiento de la membrana basal capilar por glucosilación de las proteínas, que ocurre fundamentalmente en la retina (retinopatías) y el riñón (nefropatías)³. Se caracteriza por afecciones en los pequeños vasos (capilares y arteriolas)^{4,28}.

La *macroangiopatía*, constituida por: a) enfermedades de la pared arterial²⁹ y b) anomalías de las propiedades hemostáticas de la sangre³⁰. Estos últimos dos aspectos están relacionados con la aterosclerosis, que en diabéticos es mucho más frecuente por la elevada adhesividad y agregabilidad plaquetaria que ellos presentan por la hiperglicemia y por ser la insulina la encargada de estimular la proliferación de células musculares lisas e

incrementar la captación y síntesis local de lípidos³¹. La aterosclerosis conduce a enfermedades isquémicas cardiovasculares, vasculares periféricas, y cerebro vasculares⁴.

La *neuropatía diabética*, un estado clínico que se caracteriza por disfunción o alteración motora del sistema nervioso, central o periférico, que aparece en estadios tardíos de la diabetes.⁴ La etiología y patogenia de la neuropatía diabética es multifactorial, aunque las más importantes son la vascular y la metabólica. Ambas teorías suponen que la hiperglicemia condiciona la aparición de neuropatía³². Como consecuencia, todas estas alteraciones ocasionarán modificaciones estructurales y funcionales en las extremidades inferiores, fundamentalmente en el pie³³, La neuropatía diabética periférica, las enfermedades vasculares periféricas y la disminución de la resistencia a las infecciones en estos pacientes, favorecen el desarrollo del pie diabético³⁴.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



ACTH: hormona adrenocorticotropa; FNT α : factor de necrosis tumoral alfa; HDL: lipoproteína de alta densidad; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6; LDL: lipoproteína de baja densidad; Lp(a): lipoproteína a; NF-KB: factor nuclear kappa beta; PCR proteína C reactiva; PSAA: proteína de superficie; VLDL: proteína de muy baja densidad

Figura 2.1 Complicaciones relacionadas a la aterosclerosis, resistencia a la insulina y la DM. Tomado de ²

Para el inicio de la DM existen algunos de los factores desencadenantes son la predisposición genética (tabla 2.6a), obesidad, trastornos inmunológicos, gestación, infecciones, toxinas, alimentación inadecuada junto con sedentarismo, así como patologías asociadas a DM (tabla 2.6b).²

Tabla 2.6a Clasificación de los diferentes tipos de hiperglucemias causadas por diversas mutaciones genéticas. Modificado de ^{1,17,19}

Mutaciones génicas definidas asociadas a DM tipo 1 y 2	
Diabetes mellitus tipo 1	
Diabetes mellitus autoinmunitaria (tipo 1A)	
Diabetes mellitus no autoinmunitaria o idiopática (tipo 1B)	
Diabetes mellitus tipo 2	
Diabetes del adulto de inicio juvenil (MODY)	
MODY 1, por mutaciones del gen del factor nuclear de hepatocitos 4a (HNF4A)	
MODY 2, por mutaciones en gen de glucocinasa (GCK)	
MODY 3, mutaciones en el gen del factor nuclear de hepatocitos 1a (TCF1)	
MODY 4, mutaciones del gen del factor del promotor insulínico 1 (IPF1)	
MODY 5, mutaciones del gen del factor nuclear de hepatocitos 1b (HNF1b)	
MODY 6, por mutaciones del gen de diferenciación neurógena 1 (NEUROD1)	
MODY X, por mutaciones en genes no identificados	
Diabetes y sordera heredadas de la madre (MIDD)	
Mutaciones en el gen de tRNA de leucina mitocondrial	
Mutaciones en el gen de insulina	
Mutaciones en el gen del receptor de insulina	

HNF4A, factor nuclear de hepatocitos 4a; GCK, glucocinasa; IPF1, factor del promotor insulínico 1; HNF1b, factor nuclear de hepatocitos 1b; NEUROD1, diferenciación neurógena 1; MIDD, diabetes y sordera heredadas de la madre.

Tabla 2.6b. Clasificación de DM ligadas a un proceso patológico. Modificado de ^{1,17,19}

Diabetes ligada a procesos patológicos. Diabetes mellitus tipo 2	
Tipo	Ejemplo
Diabetes que surge después de alguna pancreatopatía	Pancreatitis crónica
Diabetes que es consecuencia de otras endocrinopatías	Enfermedad de Cushing Administración de glucocorticoides Acromegalia
Diabetes secundaria a supresión inmunitaria	
Diabetes que acompaña a síndromes genéticos como el de Prader-Willi	
Diabetes que surge por farmacoterapia	

2.4 Fisiopatología y tratamientos de la DM

De manera normal, la insulina endógena es producida en las células β del páncreas (Figura 2.2); La glucosa es transportada por GLUT 1 (ingreso basal de glucosa) o GLUT 2 (receptor de glucosa en páncreas), el metabolismo interior de la glucosa-6-fosfato por la vía de glucólisis genera trifosfato de adenosina (ATP), que inhibe la actividad de un canal de K^+ sensible a ATP (K^+_{ATP}). Este canal consiste en dos proteínas separadas: una es el receptor de ciertos hipoglucemiantes orales (receptor SUR), y el otro es una proteína de canal de K^+_{ATP} rectificadora hacia el interior. La inhibición de este conducto de K^+_{ATP} induce la despolarización de la membrana de la célula β , lo que abre canales de calcio dependientes de voltaje, aumentando las concentraciones de calcio intracelular, lo que estimula la secreción de insulina.^{19,35}

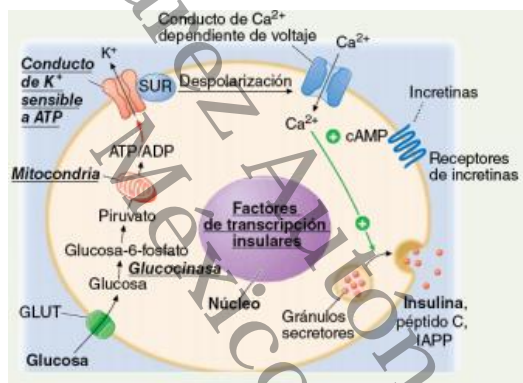


Figura 2.2 Mecanismo de secreción de la insulina de la célula α -pancreática²³

Cuando este proceso falla en algún punto, existen opciones farmacológicas que intentan restablecer los procesos físicos, bioquímicos y metabólicos.³⁵

Para el tratamiento de la DM existen *tratamientos no farmacológicos* y *farmacológicos*. Los primeros están basados en dieta adecuada y ejercicios que permiten al paciente restablecer un estilo de vida saludable. Los segundos hacen uso de una amplia gama de fármacos que, de acuerdo a su mecanismo de acción se clasifican en: insulina y análogos, sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de las α -glucosidasas, glucosúricos (inhibidores del cotransportador de sodio glucosa tipo 2; SGLT-2), tiazolidinedionas o glitazonas (agonistas selectivos del receptor nuclear activado por proliferador de peroxisomas gamma; PPAR γ), agonistas de las incretinas, inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4), agonistas de la amilina, los secuestradores de ácidos biliares y los agonistas de receptores D2 dopaminérgicos.^{3,23,36-38}

2.5 Tratamiento no farmacológico

El tratamiento no farmacológico consiste en planes de alimentación y ejercicios físicos que tienen como fin mantener un adecuado estado nutricional y permitir un estilo de vida normal en el paciente.¹⁷ La educación y entrenamiento del paciente es esencial para lograr el objetivo principal, proporcionar información y conocimientos sobre la diabetes; entrenar y adiestrar en la adquisición de habilidades y hábitos; crear en el enfermo una real conciencia de su problema que le permita lograr cambios en su estilo de vida para una mejor atención en su estado de salud. Debe ser progresiva, continua y ajustada a las condiciones clínicas del enfermo. Dirigido a lograr la incorporación activa del paciente y sus familiares al tratamiento.³⁹ Al existir un grupo de apoyo (que involucra al personal de salud), dirigido hacia el entrenamiento del paciente individual, se puede mejorar el control de peso, que el paciente acepte su enfermedad, mejorar el control glucémico, abundar en el conocimiento sobre la diabetes, las habilidades para el autocuidado, la disminución de la presión arterial, del peso corporal y disminuir el uso de medicamentos a mediano y largo plazos.⁴⁰

Las ventajas fisiológicas inmediatas de la actividad física son mejoría de la acción sistémica de la insulina de 2 a 72 h, mejoría de la presión sistólica más que la diastólica y aumento de la captación de glucosa por el músculo y el hígado. Además, a mayor intensidad de la actividad física, se utilizan más los carbohidratos. La actividad física de resistencia disminuye la glucosa en las primeras 24 h.^{39,41}

Las modificaciones en la alimentación, el ejercicio y las terapias conductuales favorecen la disminución del peso y el control glucémico. Las dietas con hidratos de carbono entre 55 y 60 %, 15% en forma de proteínas y menos del 30% en forma de grasas, además de alimentos de bajo índice glucémico, son eficaces en el control de la glucemia.^{14,42}

A largo plazo, la actividad física mantiene la acción de la insulina, el control de la glucosa, la oxidación de las grasas y disminuye el colesterol LDL. Si se acompaña de pérdida de peso, es más efectiva para mejorar la dislipidemia, sin embargo, estudios recientes revelan que aunque no provoque pérdida de peso, mejora significativamente el control glucémico, reduce el tejido adiposo visceral, los triglicéridos plasmáticos, mejora los niveles de óxido nítrico, la disfunción endotelial y la depresión.^{43,44}

Los tratamientos no farmacológicos ayudan al paciente a sobre llevar su enfermedad, sin embargo, los tratamientos farmacológicos deben de estar indicados para el control de la DM.

2.6 Tratamiento farmacológico

Se puede realizar un tratamiento preventivo en personas con alto riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2; lo que puede retrasar su aparición, a través de programas bien estructurados para modificar estilos de vida. En el 58% de estos pacientes, se logra reducir el inicio de esta enfermedad durante 3 años, con el uso de los siguientes fármacos: metformina, acarbosa, repaglinida y rosiglitazona que son efectivos.⁴⁵⁻⁴⁷

Existen distintas alternativas para el tratamiento farmacológico de cada tipo de DM. Cuando la concentración de insulina no es suficiente o nula se deriva en la DM tipo 1 por lo que el paciente debe recibir dosis diarias de insulina al no ser capaz de producirla por sí mismo. Se dispone de insulina en distintas presentaciones y también de diferentes dispositivos de administración como agujas/lápiz para insulina, inyección tipo jet y la bomba externa de insulina, los cuales dependen de la vía de administración que puede ser intravenosa, subcutánea o intramuscular.

2.6.1 Insulina y análogos

La insulina (Figura 2.3) se produce en el páncreas, específicamente en los islotes de Langerhans, los cuales están compuestos por 4 tipos de células: células β que segregan la insulina (hormona proteica),^{48,49} las células α que segregan glucagón, células δ que segregan somostatina y célula PP que libera el polipéptido pancreático.^{3,19,36} Las células β son las más numerosas y se localizan en la porción central del islote.²⁵

La insulina está compuesta por dos cadenas polipeptídicas, α con 21 aminoácidos y β con 30 aminoácidos unidas por puentes disulfuro.^{36,50,51} La insulina circula en sangre como monómero libre y su volumen de distribución se aproxima al volumen del líquido extracelular, en situación de ayuno, el páncreas secreta 40 μg (1 unidad, U) de insulina por hora, para alcanzar una concentración de la hormona en sangre de 2 a 4 ng/mL (50-100 $\mu\text{U/mL}$), y en circulación periférica de 0.5 ng/mL (12 $\mu\text{U/mL}$).³⁶

Tabla 2.7 Efectos hipoglucemiantes de la insulina. Tomado de ³⁶

Hígado	Músculo	Tejido adiposo
Inhibe la producción hepática de glucosa (disminuye la gluconeogénesis y la glucogenólisis)	Estimula la captación de glucosa	Estimula la captación de glucosa (la cantidad es pequeña en comparación con el músculo)
Estimula la captación hepática de glucosa	Bloquea el flujo de precursores gluconeogénicos hacia el hígado (alanina, lactato y piruvato)	Inhibe el flujo del precursor gluconeógeno hacia el hígado (glicerol) y reduce el sustrato de energía para la gluconeogénesis hepática (ácidos grasos no esterificados)

La secreción de insulina es un proceso regulado principalmente en respuesta al incremento de glucosa, aunque también está ligado de manera estrecha a varios factores como ya vimos, cuyo fin es proporcionar concentraciones estables de glucosa en sangre tanto en ayuno como en alimentación.³⁶ Las concentraciones de glucosa mayores de 70mg/100mL estimulan la síntesis de insulina primordialmente al intensificar la traducción y el procesamiento de la proteína.²³ La glucosa, los aminoácidos, los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos favorecen la secreción de insulina, al igual que la activación del receptor β_2 -adrenérgico y la inervación parasimpática del nervio vago, por el contrario, la rama simpática adrenérgica (receptores α_2 -adrenérgicos) inhiben la secreción de la insulina.^{25,52}

Las características de la secreción de insulina revelan un modelo pulsátil de descarga de la hormona, con ráfagas secretoras pequeñas aproximadamente cada 10 min superpuestas a oscilaciones de mayor amplitud de 80 a 150 min²³.

Los avances tecnológicos en ADN recombinante han permitido la disposición de insulina de una manera rápida y económica para el tratamiento de DM⁵³, realizando modificaciones a la molécula de la insulina humana se han logrado producir análogos de la insulina, esto conlleva a una modificación de la farmacocinética y farmacodinamia de la insulina, aunque siempre buscando la actividad basal y el pico de actividad de forma similar a la producida por las células β del páncreas.⁵⁴ La insulina humana difiere de las de origen animal por la

variación de algunos aminoácidos, en el caso de la porcina el cambio es en un aminoácido en posición B30 (alanina por tirosina) y en la de origen bovina la diferencia se encuentra en tres aminoácidos B30 (alanina), A8 (alanina) y A10 (valina). En la actualidad la insulina que se emplea para uso terapéutico es la obtenida mediante técnicas de ADN recombinante, similar a la humana.²⁵ En la DM tipo 1 la producción de insulina no se lleva a cabo de manera adecuada, por ello es necesario administrar análogos de insulinas siempre buscando la actividad basal y el pico de actividad de forma similar a la producida por las células β del páncreas.⁵⁴

Se pueden clasificar a las insulinas de acuerdo a su tiempo de acción en: rápida (Glulisina, Lispro, Aspártica), intermedia (Isofánica o NPH-*protamina neutral de Hagedorn*) y lenta (Glargina, Detemir, Zinc, protamina).^{55,50,54,36}

2.6.2 Fármacos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2

La DM tipo 2 afecta al 90-95% de las personas que tienen diabetes, está relacionada con un antecedente de resistencia a la insulina y a una deficiencia en la producción de la misma⁵⁶. Existen diferentes tratamientos con fármacos hipoglucemiantes que tienen diversos efectos farmacológicos, tales como: *secretagogos* (compuestos que aumentan la secreción de insulina), y *sensibilizadores* los que reducen la producción de glucosa, los que aumentan la sensibilidad a la insulina, los que intensifican la acción de GLP-1 (péptido similar al glucagón tipo 1) y los que inducen la excreción urinaria de glucosa²³.

En este tipo de diabetes el paciente no depende de la administración de insulina, por lo que para su tratamiento se emplean fármacos orales como: las *sulfonilureas*, que estimulan la secreción de insulina por la célula β -pancreática, a través de su unión a un canal potasio dependiente de ATP; las *biguanidas*, que actúan fundamentalmente a dos niveles: en el músculo, aumentando la entrada de glucosa a las células, y en el hígado, disminuyendo la producción de glucosa al disminuir la gluconeogénesis, la glucogenólisis o ambas; los *inhibidores de la α -glucosidasa*, actúan inhibiendo las enzimas de las vellosidades del enterocito que hidrolizan los oligosacáridos a disacáridos y monosacárido, disminuyendo así la absorción de glucosa a nivel intestinal; las *meglitinidas*, que tiene mecanismo de acción similar a las sulfonilureas como secretagogos de insulina, las *tiazolidinedionas* que actúan a nivel hepático disminuyendo la resistencia a la insulina y, en menor medida, disminuyendo la producción hepática de glucosa, estimulan al PPAR γ , reduciendo la

expresión de los genes que codifican a las enzimas de la neoglucogénesis.¹³ actualmente se han descubierto nuevos grupos de fármacos, tales como los glucosúricos que inhiben al SGLT-2 impidiendo la reabsorción de glucosa que se realiza en los riñones, las incretinas que son hormonas que actúan a nivel intestinal, estimulan la secreción de insulina por un mecanismo diferente al de las sulfonilureas y meglitinidas y además inhiben la secreción de glucagón, los inhibidores de la DPP-4 alargan la vida media de las incretinas, los agonistas de la amilina retardan el vaciado gástrico, produce sensación de saciedad e inhiben la secreción de glucagón, los secuestradores de los ácidos biliares se postula que disminuyen la producción hepática de glucosa e incrementan la liberación de incretinas y los agonistas de receptores D2 dopaminérgicos, como la bromocriptina, que actúa sobre el hipotálamo condicionando un cambio en el ritmo circadiano produciendo un estado más sensible a la insulina.^{3,23,36-38}

2.6.3 Sulfonilureas

Son fármacos secretagogos de insulina que bloquean directamente a los canales de K^{+}_{ATP} . Existen sulfonilureas de primera generación de baja afinidad (acetohexamida, clorpropamida, tolazamida, tolbutamida) y de segunda generación de alta afinidad siendo la más importante la glibenclamida (Figura 2.4), y otras como la glipizida y la glimepirida. Todas tienen amplio uso para el tratamiento de la DM tipo 2, todas son aril-sulfonil-ureas sustituidas, difieren por su sustitución en la posición *para* del anillo de benceno y en un residuo de nitrógeno de la urea.

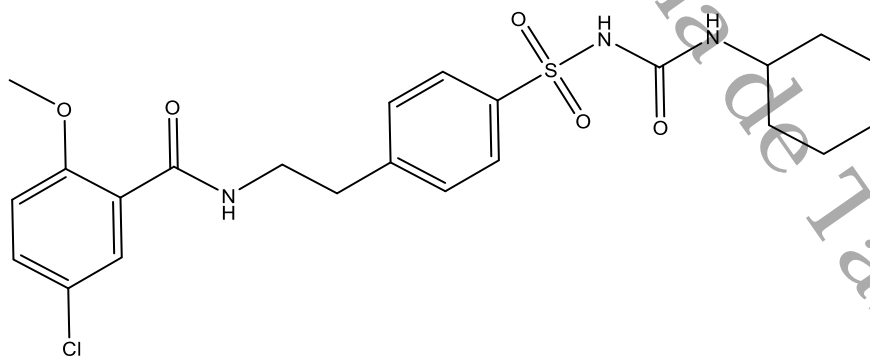


Figura 2.4 Estructura de una sulfonilurea, la glibenclamida

Los canales de K^{+}_{ATP} son diana de estos fármacos (Figura 2.5), estimulan la secreción de insulina mediante su unión a un receptor en la membrana denominado receptor de

sulfonilureas (SUR), bloqueando los canales K^+_{ATP} en las células β del páncreas causando despolarización en la membrana plasmática lo que a su vez abre los canales de calcio dependientes de voltaje con lo que aumenta la concentración de calcio intracelular y se induce la secreción de insulina.³

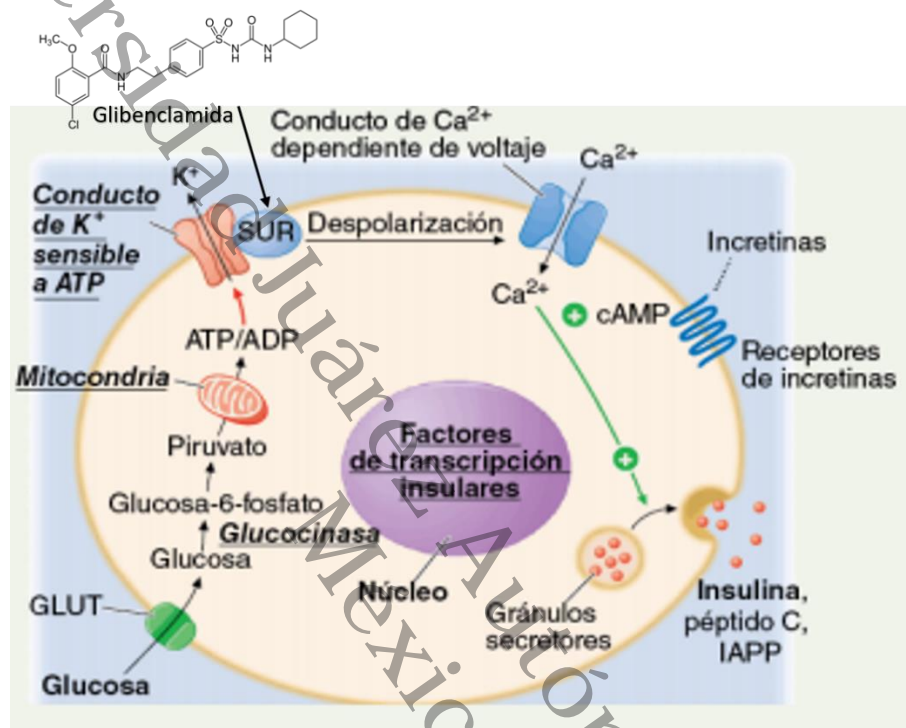


Figura 2.5 Mecanismo de acción de las sulfonilureas. Tomado de ⁵⁷

2.6.4 Meglitinidas

La repaglinida (figura 2.6) y la nateglinida son ejemplos de estos fármacos que actúan de manera similar a las sulfonilureas bloqueando los K_{ATP} , pero no pertenecen a dicho grupo por diferencias en su estructura y por sus propiedades farmacocinéticas.³

Son secretagogos de rápido efecto (30 min) y acción corta (1-2 horas) que solo estimulan la secreción de insulina en el periodo posprandial.

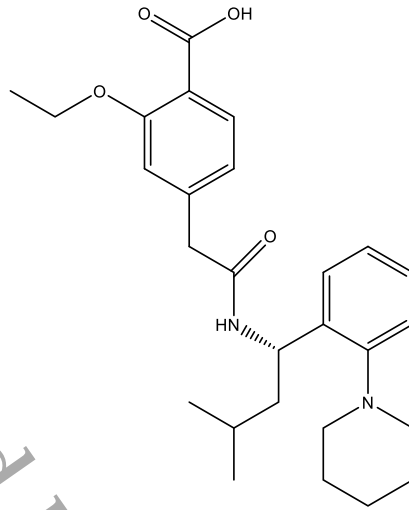


Figura 2.6 Estructura de la repaglinida, como se observa no contiene sulfonilos por lo que la diferencia de las sulfonilureas

2.6.5 Biguanidas

Los principales fármacos de este grupo comercializados en el mercado son la metformina y fenformina. La metformina es un antihiper glucemiante, que estimula a la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) lo que aminora la producción hepática de glucosa (posiblemente reduciendo la gluconeogénesis) disminuyendo la concentración de glucosa (figura 2.7). Aumenta la acción de la insulina en el músculo y grasa, facilitando la captación de glucosa y síntesis de glucógeno. Incrementan la expresión de GLUT-4 y su capacidad trasportadora. Así mismo, la metformina disminuye la absorción intestinal de glucosa y, por lo tanto, los niveles posprandiales de glucemia.⁵⁸

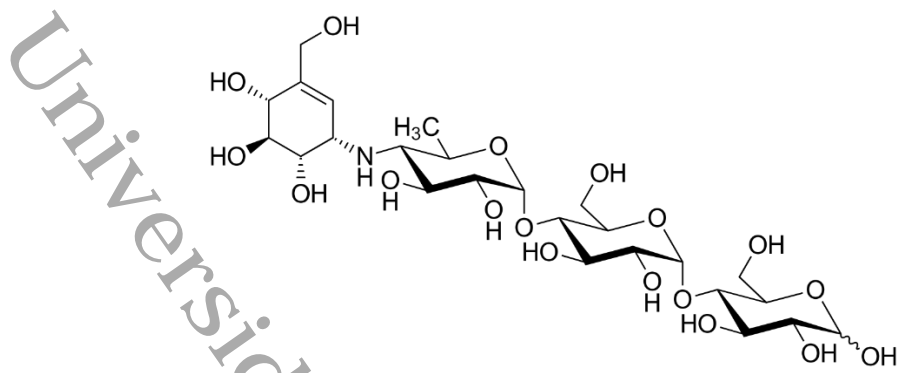


Figura 2.8 Estructura de la acarbosa

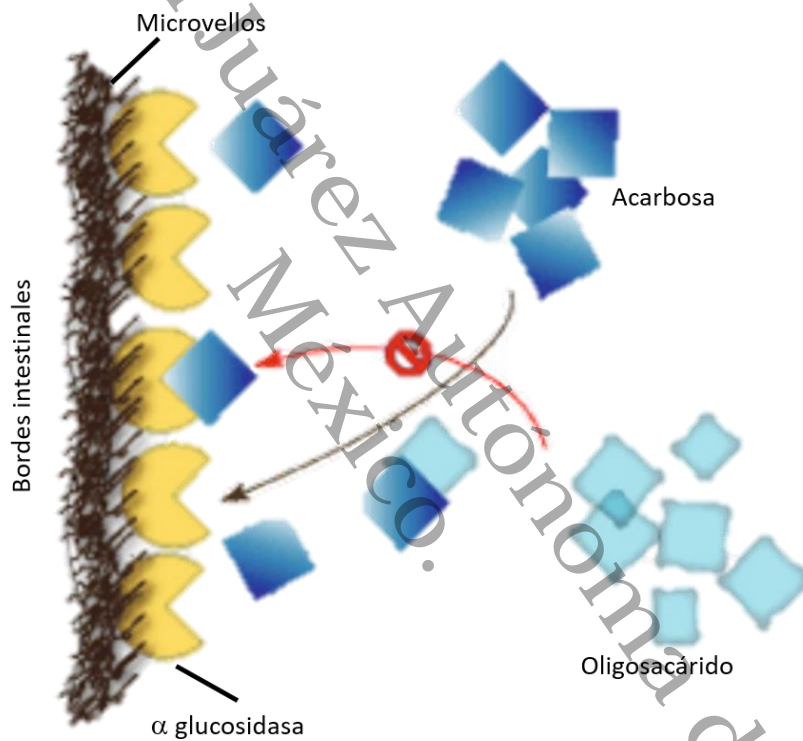


Figura 2.9 Mecanismo de acción de los inhibidores de las α glucosidasas, se muestra el fármaco acarbosa como ejemplo. Tomado de ⁵⁹

2.6.7 Glucosúricos: Inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT-2)

Se entiende por glucosúricos aquellos compuestos que incrementan la eliminación urinaria de glucosa. Antes de considerar el mecanismo de acción de estos compuestos haremos algunas consideraciones sobre la participación renal en la homeostasis de la glucosa.

El primer paso en la reabsorción de la glucosa de la orina implica el transporte de glucosa desde los túbulos a los capilares peritubulares a través de las células epiteliales tubulares en el riñón. Esto se logra con la familia de cotransportadores sodio-glucosa (SGLT), la reabsorción tubular de glucosa permite que la glucosa que se filtra regrese a la sangre. En el filtrado glomerular la concentración de glucosa es igual a la de la sangre y el proceso de reabsorción condiciona que no se elimine glucosa por orina; en la medida que la glicemia se incrementa, aumenta la disponibilidad tubular de glucosa y se alcanzara un punto en el que comienza a aparecer glucosa en le orina, esto es conocido como la transferencia máxima de glucosa la cual está entre 180 y 200 mg/dL de sangre.⁶⁰

Los glucosúricos (canagliflozina, dapagliflozina y empagliflozina), reducen la glucemia por inhibición selectiva del cotransportador SGLT-2, que se expresa casi de manera exclusiva en el túbulo contorneado proximal de los riñones. Esto inhibe la reabsorción de glucosa, disminuye el umbral renal para glucosa y aumenta la excreción urinaria de glucosa (figura 2.10). Por tanto, el efecto hipoglucémico es independiente de la insulina y no se acompaña de cambios en la sensibilidad o secreción de la insulina. Debido a que estos fármacos son la clase más nueva para tratar la DM tipo 2 la experiencia clínica es limitada.³⁷

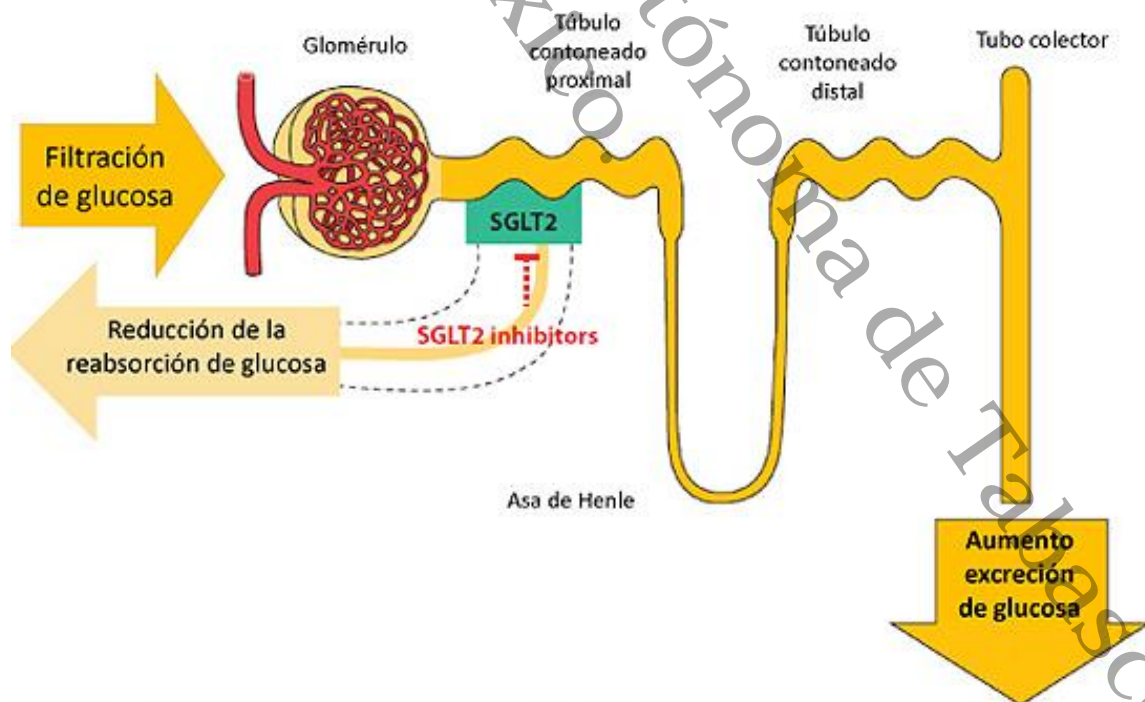


Figura 2.10 Mecanismo de acción de los SGLT-2. Tomado de ⁶¹

2.6.8 Tiazolidinedionas o glitazonas

Son agonistas selectivos del receptor nuclear activado por proliferador de peroxisomas gamma ($PPAR\gamma$), estos fármacos (rosiglitazona y pioglitazona), se unen a $PPAR\gamma$ e inducen la expresión de genes que participan en las acciones de la insulina y que regulan el metabolismo de carbohidratos y lípidos (figura 2.11). La acción de las tiazolidinedionas requiere la presencia de insulina. Estos medicamentos ejercen sus principales efectos al disminuir la resistencia a la insulina en tejidos periféricos, pero también pueden aminorar la producción de glucosa en el hígado. Las tiazolidinedionas aumentan el transporte de glucosa hacia el tejido muscular y adiposo al incrementar la síntesis de formas específicas de las proteínas transportadoras de glucosa, y la translocación de las mismas (GLUT 4, acetil-CoA-sintetasa de ácidos grasos.³

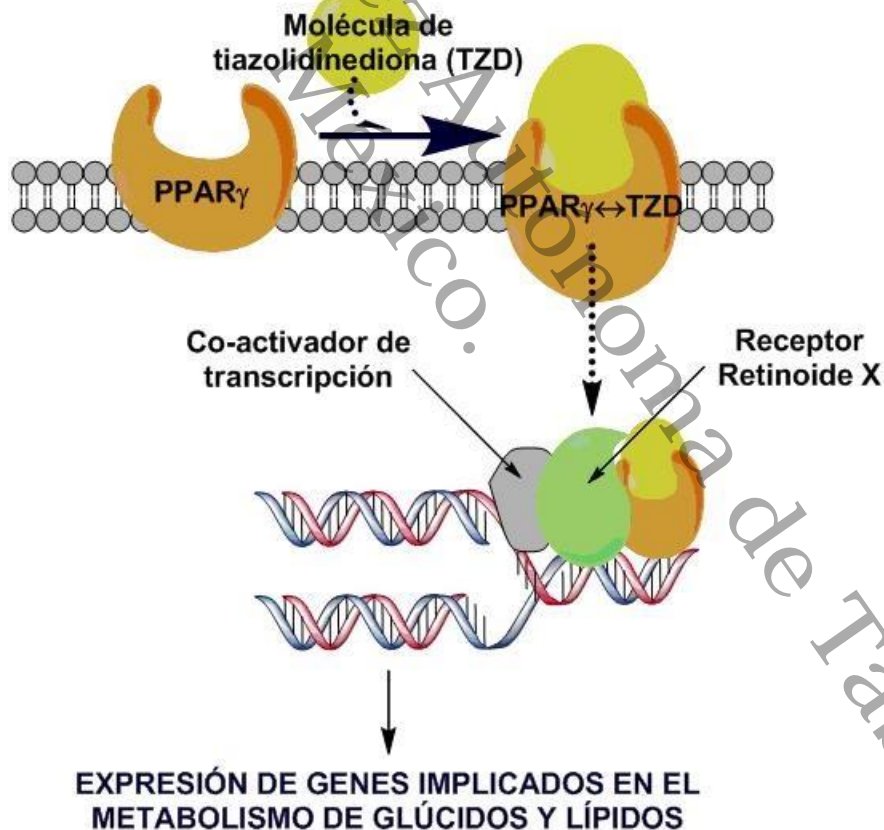


Figura 2.11 Mecanismo de acción de las glitazonas

2.6.9 Incretinas

Las incretinas son hormonas liberadas en el intestino en respuesta a la ingesta de alimentos, y que han sido reconocidas como estimuladoras fisiológicas de la secreción de insulina.⁶²

El péptido similar a glucagón-1 (GLP-1R) y el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) ejercen su acción a través de receptores acoplados a proteínas G, altamente expresados en las células β de los islotes de Langerhans (figura 2.12). Son hormonas liberadas en las porciones alta y baja de los intestinos que intensifican la secreción de insulina dependiente de glucosa, aminora la secreción de glucagón, lentifica el vaciamiento del estómago y disminuye el apetito; todo esto en respuesta a la ingesta de alimentos.⁶³

Tanto GIP como GLP-1R se unen, en las células β pancreáticas, a un receptor de membrana constituido por tres subunidades, el cual por medio de una proteína G estimula la adenilato ciclasa, ésta enzima a su vez incrementa la concentración intracelular de cAMP y éste estimula la actividad de la proteinquinasa A, el mecanismo por el cual esta cascada de reacciones estimulan la secreción de insulina no está claro pero es independiente del cierre de los canales de K^{+ATP} y la subsecuente despolarización de las células β y el incremento de Ca^{2+} intracelular, pero si está estrechamente relacionado con la concentración sanguínea de glucosa.⁶³

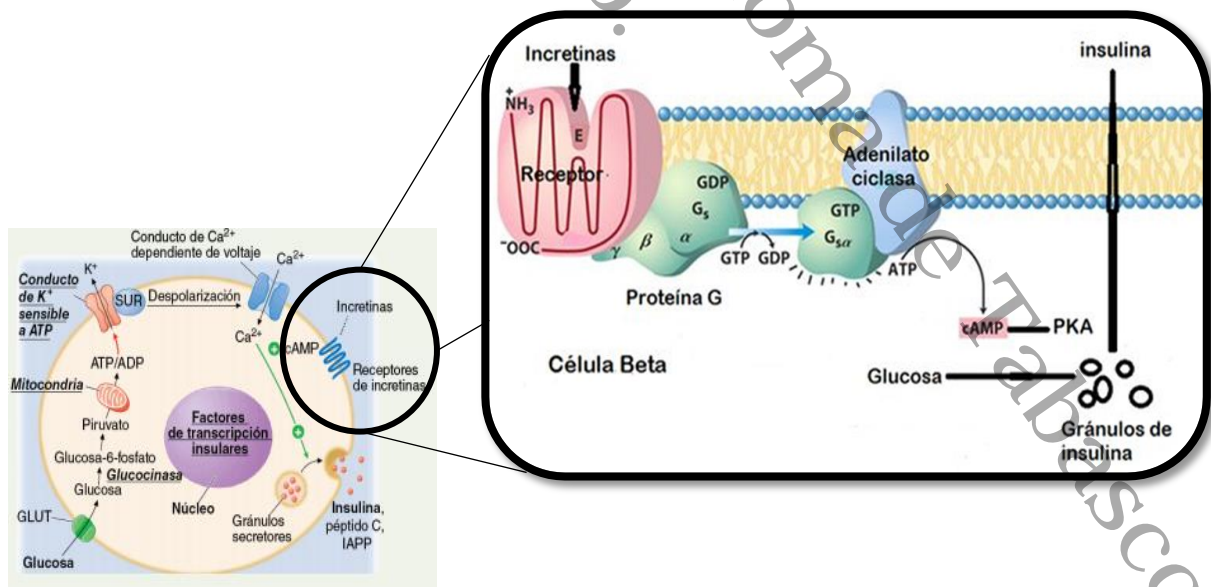


Figura 2.12 Mecanismo de acción de las incretinas (GLP-1, GIP). cAMP monofosfato de adenosina cíclico, ATP trifosfato de adenosina, PKA proteína quinasa A

Dentro de los fármacos que actúan como incretinas podemos mencionar a: los secretagogos de insulina que intensifican las señales del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1R) (exenatide, liraglutide y lixisenatide), los inhibidores de la dipeptidil-peptidasa-4 (DPP-4; sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina), y los agonistas de la amilina (Pramlintida).

2.6.10 Secretagogos de insulina que intensifican las señales del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1R)

La GLP-1 y GIP son inactivadas rápidamente por la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4) (1 a 2 min), en consecuencia, se ha intentado, desde el punto de vista farmacológico, enfrentar esta situación utilizando análogos de las incretinas que sean resistentes a la hidrólisis causada por la DPP-4 o utilizando inhibidores de la DPP-4. El efecto beneficioso producido por el GLP-1 no solo es debido a la potenciación de la secreción de insulina, sino que también inhibe la secreción de glucagón por las células α pancreáticas, así el efecto de la disminución de la cantidad de glucagón por los agonistas de GLP-1R y de los inhibidores de DPP-4 contribuyen a un mejor control de la glicemia.⁶⁴

La estimulación de la secreción de insulina promovida por las incretinas y por los análogos del GLP-1R depende de los niveles de glicemia lo cual condiciona que estos fármacos no produzcan hipoglicemia como si lo hacen las sulfonilureas, además es importante destacar que las sulfonilureas condicionan stress sobre las células β pancreáticas promoviendo su apoptosis.⁶⁵

Se han realizado investigaciones importantes para obtener agonistas del receptor GLP-1 que conserven los efectos fisiológicos de la incretina original, pero que sean resistentes a las acciones de DPP-4. Hasta la fecha, se han hecho investigaciones en humanos de dos análogos sintéticos de GLP-1.

La exendina-4, obtenida de la glándula salival del *Heloderma suspectum*, con una homología de 53 % con GLP-1 de humanos, esta es resistente a DPP-4 y posee actividad agonista total en los receptores de GLP-1.^{3,23}

2.6.11 Inhibidores de la dipeptidil-peptidasa-4 (DPP-4)

Se puede inactivar la enzima proteasa DPP-4 y con ello incrementar los niveles circulantes de GLP-1 endógena. Estos fármacos inhiben la secreción de glucagón, reducen los niveles de hemoglobina glucosilada (HbA1c) y la glucemia tanto en ayuno como posprandiales, estimulan la proliferación celular en el islote de Langerhans e inhiben la apoptosis. Sin embargo, dado que DPP-4 metaboliza péptidos de muy diversos tipos con una amplia actividad biológica incluyendo efectos sobre: el metabolismo de carbohidratos, la movilidad intestinal, la regulación del apetito, la inflamación, el sistema inmune y la regulación del dolor,⁶⁶ surgen dudas teóricas en cuanto a su seguridad en administraciones crónicas. La potencia de los inhibidores de DPP-4 puede ser frenada por el grado de producción endógena de GLP-1.^{3,23,36}

2.6.12 Agonistas de la amilina

La amilina es una hormona polipeptídica secretada por las células β del páncreas junto con la insulina por lo tanto, funciona como un compañero sinérgico a la insulina. Funciona como parte del páncreas endocrino y contribuye al control glucémico, su función metabólica contribuye al mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, es señalada como un inhibidor del glucagón, retrasa el vaciado gástrico y suprime el apetito. También es conocida como polipéptido amiloide de los islotes (IAPP). Es sintetizado en las células β de los islotes pancreáticos como una prohormona y es hidrolizado en el retículo endoplasmático. La prohormona termina de madurar en el Aparato de Golgi y se almacena en los mismos gránulos secretores que la insulina, en consecuencia, es liberada por los mismos estímulos que la insulina.⁶⁷

La FDA aprobó recientemente la pramlintida para el tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipos 1 y 2 que no tienen un control adecuado con insulina.^{3,23,36}

2.6.13 Otros fármacos inicialmente usados para otras patologías

2.6.13.1 Secuestradores de los ácidos biliares

Los secuestradores de los ácidos biliares fueron inicialmente desarrollados para el tratamiento de las dislipidemias, sin embargo, se demostró que son capaces de reducir la

hiperglicemia de los pacientes con DM tipo 2. Aunque el mecanismo por el cual estas drogas actúan es desconocido, se postula que reducen la producción de glucosa por el hígado e incrementan la liberación de incretinas y el ácido biliar hepático. El Colerevelan es el único medicamento de este tipo que está en el mercado y que se utiliza en la DT2.⁶⁸

2.6.13.2 Agonistas de receptores D2 dopaminérgicos

Los Agonistas de receptores D2 dopaminérgicos como la bromocriptina, son análogos de la dopamina que se unen al receptor de dicha amina en el sistema nervioso central. Es usado para trastornos hipofisarios y Parkinson. Se desconoce su mecanismo de acción, sin embargo, se ha sugerido que por efecto sobre el hipotálamo altera el ritmo circadiano condicionando un estado más sensible a la insulina con lo cual se mejora la tolerancia a la glucosa.^{38,69}

2.7 Productos naturales para el tratamiento de la diabetes mellitus

A pesar de la cantidad de medicamentos disponibles para controlar la hiperglucemia y las complicaciones diabéticas, es importante la investigación de otras moléculas que puedan utilizarse para el tratamiento de la diabetes, particularmente para aquellos casos en que los medicamentos disponibles no han sido efectivos, considerando también las variantes genéticas y las perspectivas recientes sobre la medicina personalizada.⁷⁰

Actualmente, el uso medicinal en diversas etnias del mundo es utilizado como criterio para seleccionar especies vegetales, llevar a cabo aislamientos biodirigidos e identificar nuevos compuestos activos con propiedades farmacológicas a nivel preclínico en una variedad de modelos de diabetes *in vitro* e *in vivo*. Teniendo en cuenta la invaluable biodiversidad y cantidad de metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, los productos naturales representan una importante fuente de biomoléculas con potencial uso como fármacos y medicamentos.^{11,71} En la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos y biomoléculas para tratar la DM se han investigado diversas especies vegetales con potencial desarrollo para ser utilizadas en la terapéutica de la DM.^{72,73}

Particularizando, la síntesis de metformina (así como los medicamentos antidiabéticos de tipo biguanida) se realizó a partir de galegina aislada de *Galega officinalis*, y es uno de los medicamentos más recetados para el tratamiento de la DM tipo 2.^{74,75} Así mismo, se realizó

el estudio de la corteza y semillas manzana (*Malus domestica*), que condujo al aislamiento de la florizina, la cual es una chalcona que actúa como inhibidor competitivo de SGLT-2, a nivel intestinal es hidrolizada perdiendo el resto de glucosa y transformándose en floretina la cual inhibe al GLUT-1 inhibiendo la entrada de glucosa en varios tejidos entre los cuales destaca el sistema nervioso central. Se obtuvieron varios derivados semisintéticos con enlaces glicosídicos más resistentes a la hidrólisis aumentando su biodisponibilidad oral e incrementando la mayor selectividad por inhibir el SGLT-2 sobre el SGLT-1, estos derivados se usaron como fármacos antidiabéticos, como sergliflozina, tofogliflozina, ipragliflozina, empagliflozina, remogliflozina, canagliflozina y dapagliflozina.^{38,76}

Diferentes compuestos fenólicos como los flavonoides y las antocianinas tienen efectos positivos sobre la diabetes.⁷⁷ Tal es el caso de las antocianinas de *Ipomoea batatas* y *Pharbitis nil*, que son inhibidores efectivos de la actividad intestinal de α -glucosidasas/maltasas y pueden reducir la glucemia después de las comidas ricas en almidón. Los efectos inhibitorios de las antocianinas dependen de su estructura, ya que su potencia como inhibidores de las α -glucosidasas es mayor en las antocianinas aciladas que en los derivados desacilados.⁵⁹ Más aún, el pycnogenol, obtenido de extractos acuosos de corteza de pino marítimo francés *Pinus pinaster*, ha demostrado actividad inhibitoria de enzimas digestivas, especialmente contra las α -glucosidasas y α -amilasas de las glándulas salivales humanas y el páncreas porcino; además de los compuestos presentes en la mezcla catequina y procianidinas inhibieron α -glucosidasas.⁷⁸

El número de ensayos clínicos realizados con plantas medicinales como agentes antidiabéticos son bastante limitados y algunos de ellos se desarrollan con formulación a base de hierbas. En los últimos años, se han publicado algunos artículos interesantes sobre antidiabéticos naturales y fitoterapia, incluidas las plantas medicinales utilizadas en medicina popular.⁷⁹ Entre estas plantas, el melón amargo o cundeamor (*M. charantia*), la ortiga (*U. dioica*), la salvia (*S. officinalis*) y el nogal (*J. regia*) se usan ampliamente en la medicina popular de las cuales también se han desarrollado algunos estudios clínicos.⁸⁰ En este contexto, los compuestos obtenidos de fuentes naturales están diseñados para ser la base para el desarrollo de nuevos fármacos. Algunos de los compuestos obtenidos como metabolitos secundarios están en fase de estudios y análisis (modelos *in vivo*, *in vitro*).⁷²

En la Tabla 2.8 se resumen las moléculas más importantes aisladas de especies vegetales, y su(s) mecanismo(s) de acción demostrados, que representan opciones prometedoras para el tratamiento de la diabetes mellitus. En la cual podemos encontrar al β -sitosterol, el

cual es un compuesto muy común en la familia de las Cucurbitaceae,⁸¹ y además tiene relación con la inhibición con la actividad de la enzima α -glucosidasa⁸² posibilitando una mejor actividad hipoglucemiante a nivel intestinal.

Tabla 2.8 Compuestos antidiabéticos aislados de especies vegetales. Tomado de ⁷²

Compuesto aislado de plantas	Mecanismo de acción
Quercetina	Antihiper glucemiante, inhibidor de la α -glucosidasa, agonista de PPAR γ , activa AMPK
Ácido Oleanólico	Antihiper glucemiante, inhibidor de la α -glucosidasa, agonista de las amilasas, activa AMPK, mejora la apoptosis de las células β pancreáticas
Kaempferol	Agonista de PPAR γ , inhibidor de la α -glucosidasa agonista de amilasas
Ácido ursólico	Antihiper glucemiante, inhibidor de la α -glucosidasa, inhibidor de la PTP1B, activa AMPK
Rutina	Antihiper glucemiante, inhibidor de la α -glucosidasa, secretagogo de insulina
Luteolina	Inhibidor de la α -glucosidasa, agonista de amilasas
β -sitosterol	Antihiper glucemiante, inhibidor de la α -glucosidasa, agonista de amilasas, inhibidor de la PTP1B, activa AMPK
Mangiferina	Antihiper glucemiante, disminuye neuropatías, actividad antioxidante contra nefrotoxicidad, inhibidor de la α -glucosidasa
Isovitexina	Antihiper glucemiante, secretagogo de insulina, inhibidor de la α -glucosidasa
Ácido ferúlico	Antihiper glucemiante, disminuye la resistencia a la insulina, inhibidor de la α -glucosidasa
Ácido betulínico	Antihiper glucemiante, activa AMPK, inhibidor de la α -glucosidasa, agonista de amilasas
Ácido 3,4-dicafeoilquinico	Inhibidor de la α -glucosidasa
Berberina	Inhibidor de la PTP1B
Lupeol	Inhibidor de la α -glucosidasa, inhibidor de la PTP1B
Apigenina	Incrementa la traslación de GLUT4, agonista de PPAR γ , inhibidor de la α -glucosidasa
Miricetina	Inhibidor de la α -glucosidasa, agonista de amilasas
Ácido caféico	Inhibidor de la α -glucosidasa, mejora la apoptosis de las células β pancreáticas

PTP1B - Proteína Fosfatasa de Tirosina

2.8 *Citrullus lanatus* (sandía)

Es una planta anual rastrera con varios tallos herbáceos, las hojas son herbáceas pero rígidas, volviéndose ásperas en ambos lados de 60-200 mm de largo y 40-150 mm de ancho (Figura 2.13). Los tallos de las hojas son algo peludos y de hasta 150 mm de largo. Las partes jóvenes son densamente lanudas con pelos amarillentos a parduscos, mientras que las partes más viejas no tienen vello. Los zarcillos son bastante robustos y generalmente se dividen en la parte superior. Las flores masculinas y femeninas se producen en la misma planta con un tallo floral de hasta 40 mm de largo y peloso. La fruta en su forma silvestre es subglobosa, indehisciente y de hasta 200 mm de diámetro; el tallo de fruta es de hasta 50 mm de largo, mientras crece adquiere su forma elipsoidal algunas veces ovoide. Las semillas son obovadas a elípticas, aplastadas, 0.5-1.5 cm × 0.5-1 cm, lisas, amarillas a marrones o negras, raramente blancas.¹²



Figura 2.13 Hojas y fruto de *Citrullus lanatus*

2.8.1 Usos en la medicina tradicional

Esquivel⁸³ menciona en 2012 que la familia *Cucurbitaceae* a la que pertenece *Citrullus lanatus* es la más importante con uso antidiabético en la medicina tradicional en México. En algunas regiones de África las semillas se administran vía oral para el tratamiento de la diabetes.^{84,85} Se usan como diuréticos,¹¹ tiene acción hipotensora y para tratar las infecciones de las vías urinarias.¹² El aceite se extrae de las semillas y se usa para el tratamiento de la sarna y para el bronceado de la piel,⁸⁶ al igual que tiene una acción antihelmíntica. Las hojas se usan en la India como antiinflamatorios y como antiséptico.⁸⁷ La cascara se prescribe en casos de intoxicación alcohólica y diabetes. La raíz se usa como

purgante y en dosis altas también puede servir como emético. Los frutos se comen como febrífugos cuando están completamente maduros; sirven como diuréticos y son efectivos en el tratamiento de hidropesía y cálculos renales. Esta especie vegetal es usada en el norte de Sudán para quemaduras, hinchazones, reumatismo, enfermedad de la gota y como laxante, en Senegal a los frutos se les ha relacionado como un purgante.¹²

2.8.2 Antecedentes farmacológicos

Se ha demostrado que los extractos metanólicos de semilla (200 mg/kg) revelaron actividad antioxidante, antiinflamatorio y analgésico significativa ($p < 0.05$) en comparación con el diclofenaco sódico y la morfina, respectivamente, probados en ratas Wistar y posteriormente podría usarse como medicina alimentaria.⁸⁸ Los extractos etanólicos de la semilla de *C. lanatus* ejercen una protección significativa contra el estrés oxidativo en diabetes inducida por estreptozotocina por su potencial para mejorar la peroxidación de lípidos a través de la actividad de eliminación de radicales libres, que mejora los niveles de sistema de defensa antioxidante y este efecto puede atribuirse a la presencia de metabolitos secundarios en el material vegetal. Varghese sugiere que se necesitan más estudios para identificar el mecanismo exacto para esta actividad.¹¹ El aceite de las semillas de *C. lanatus* posee actividad hepatoprotectora además mostró buena actividad antiinflamatoria comparado con el diclofenaco mediante pruebas de edema inducido por carragenina en pata de ratón.⁸⁹ El extracto etanólico y éter de petróleo (150, 200 y 250 mg/kg) de la semilla muestran efecto antihiper glucémico.⁸⁵

2.8.3 Antecedentes fitoquímicos

El aceite de las semillas contiene terpenoides y compuestos fenólicos⁸⁹ y el contenido de proteína cruda de las semillas de sandía están dentro de los rangos: 28.25-35.00% y varían significativamente ($p < 0.05$). Los niveles de humedad, fibra cruda y cenizas en las semillas se encontraron entre 2.16-3.24%, 1.95-3.42% y 4.29-6.60%, respectivamente. Las características físicoquímicas estudiadas de los aceites extraídos fueron: contenido de ácidos grasos libres (1.17-2.10% de ácido oleico), índice de yodo (97,10-116,32 g de I₂ 100 g de aceite), índice de saponificación (190.20-205.57 mg de KOH g de aceite), insaponificable (0.54-0.82%). El ácido linoleico es el principal ácido graso que se encuentra en los aceites de las semillas, con una contribución del 45.30-51.80% del total de ácidos

grasos. Otros ácidos grasos determinados fueron oleicos, 20.2-23.5%, palmítico, 15.1-16.9% y esteárico, 11.5-14.4%. El contenido de α - y δ -tocoferol en los aceites fue de 120.6-195.6 y 9.1-58.3 mg·kg⁻¹, respectivamente.⁹⁰ Se ha demostrado la presencia de compuestos fenólicos en las semillas de sandía, tales como ácido gálico ácido caféico, ácido p-cumárico, rutina, quercetina, quercitrina, luteonol y catequina; igualmente presencia de aminoácidos como arginina, aspartato, glutamato, glicina, leucina, fenilalanina, entre otros.⁹¹

México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

3. OBJETIVO GENERAL

Mediante un método biodirigido, evaluar la posible actividad antidiabética de extractos y fracciones de semilla y cáscara de *Citrullus lanatus* en un modelo murino de diabetes.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Identificar la especie vegetal *Citrullus lantanus*
2. Obtener extractos orgánicos de cáscara y semilla mediante el método de extracción soxhlet con disolventes de polaridad ascendente.
3. Evaluar el efecto hipoglucemiante de *C. lanatus* en ratones macho de la cepa CD-1 normoglucémicos
4. Evaluar el efecto antidiabético de *C. lanatus* en un modelo de diabetes tipo 1, en ratones macho de la cepa CD-1 diabetizados con aloxano
5. Separar los metabolitos de los extractos que resulten activos mediante cromatografía en columna

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

4. HIPÓTESIS

Con base en un criterio de selección etnomédico, la cáscara y semilla de la especie vegetal *Citrullus lanatus* presentará actividad antidiabética en un modelo de ratones macho de la cepa CD-1 diabetizados con aloxano.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

5. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que existen diversos fármacos para el tratamiento de la DM como las sulfonilureas, eficaces en controlar la hiperglucemia; biguanidas, que incrementan la sensibilidad a la insulina; inhibidores de la α -glucosidasa, que reducen la hiperglucemia postprandial y tiazolindionas que mejoran el síndrome de resistencia a la insulina y diferentes preparados de insulina humana, la DM sigue siendo un problema de salud a nivel mundial.⁸ De acuerdo a la OMS en el mundo hay más de 347 millones de personas con diabetes, en el 2012 fallecieron 1.5 millones a causa de esta enfermedad, también menciona que la prevalencia de diabetes en México ha aumentado del 6 % al 12 % en los últimos 5 años.^{1,3} La Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) refiere que, en 2006, 4 millones de mexicanos han sido diagnosticados con algún tipo de diabetes, lo cual aumentó a 8.6 millones de personas para el 2018.

Es por ello que investigar moléculas bioactivas de origen natural, como plantas medicinales resulta una tarea importante.¹¹ En el periodo 1970–2006 existían 1184 entidades químicas provenientes de productos naturales aprobadas como medicamentos, lo que demuestra la importancia del estudio fitoquímico y de la farmacognosia en la búsqueda de extractos y/o moléculas bioactivas producidas por especies vegetales.^{74,75,79,80}

Por otra parte, en la medicina tradicional de algunas partes del mundo se utilizan algunas partes del fruto de *Citrullus lantanus* para el tratamiento de la diabetes.¹¹

Por lo que, con base en un criterio de selección etnomédico, la presente investigación propone corroborar o descartar científicamente el uso de *Citrullus lanatus* para el tratamiento de la diabetes, en un modelo murino de diabetes, además de obtener los extractos o metabolitos presentes en la especie vegetal.

6. METODOLOGÍA

Se puede resumir la metodología del proyecto en tres pasos mostrados en la figura 6.1. Al tratarse de un análisis biodirigido el paso 2 (evaluación farmacológica), y el paso 3 (separación cromatográfica), pueden repetirse el número de veces que sean necesarias hasta encontrar los extractos considerados.

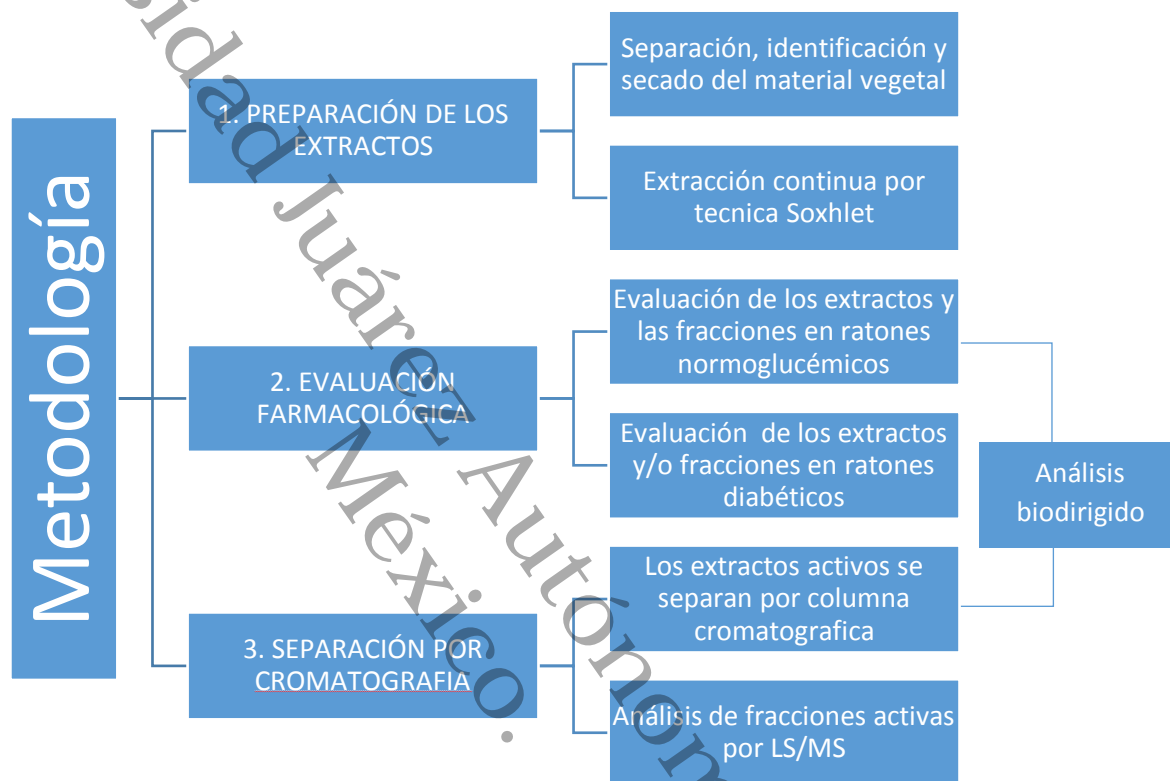


Figura 6.1 Metodología general para el desarrollo del proyecto

6.1 Recolección del material vegetal

La recolección del material vegetal (figura 6.2), se realizó en un plantío de sandías ubicado en la Ranchería Miahuatlán tercera sección, Cunduacán, Tabasco (18.0546547, -93.2136619 Google maps); colectándose el 7 de junio del 2018, muestras de tallo, hojas, flores y 30 frutos de sandía (tamaño 35-40 cm) con el fin de realizar su identificación con la colaboración de la Dra. Nelly Jiménez Pérez encargada del herbario de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBio).

a)



b)



Figura 6.2 a) Lugar de recolección del material vegetal utilizado para identificación y experimentación, b) Frutos de sandía utilizados

6.2 Preparación de los extractos

Con base en metodologías previamente descritas,^{90,93-95} se realizó la separación de las partes del fruto en semillas y cáscara (figura 6.3), una vez separadas, se realizó el secado en una estufa a 60°C durante tres días hasta que las semillas y la cáscara quedaran crujientes para posteriormente molerlas en una licuadora hasta obtener un polvo; esto se utilizó como material vegetal para las extracciones. En la Figura 6.4 se muestra el procedimiento general para la preparación de los extractos.

a)



b)



Figura 6.3 a) cáscara de sandía seca, b) semillas de sandía secas

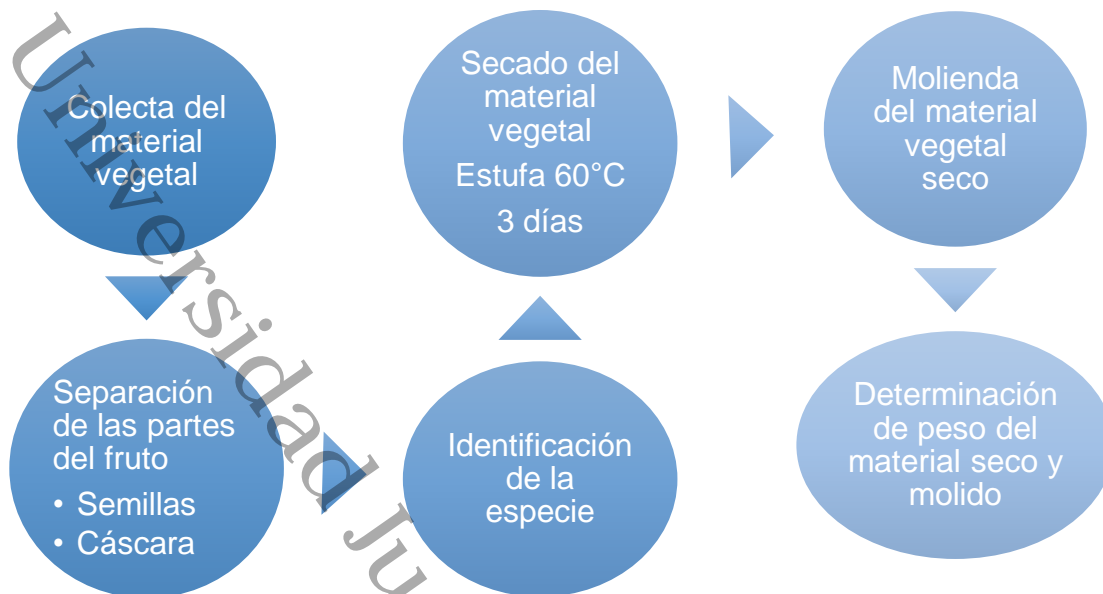


Figura 6.4 Metodología general de la preparación del material vegetal

6.3 Extracción soxhlet

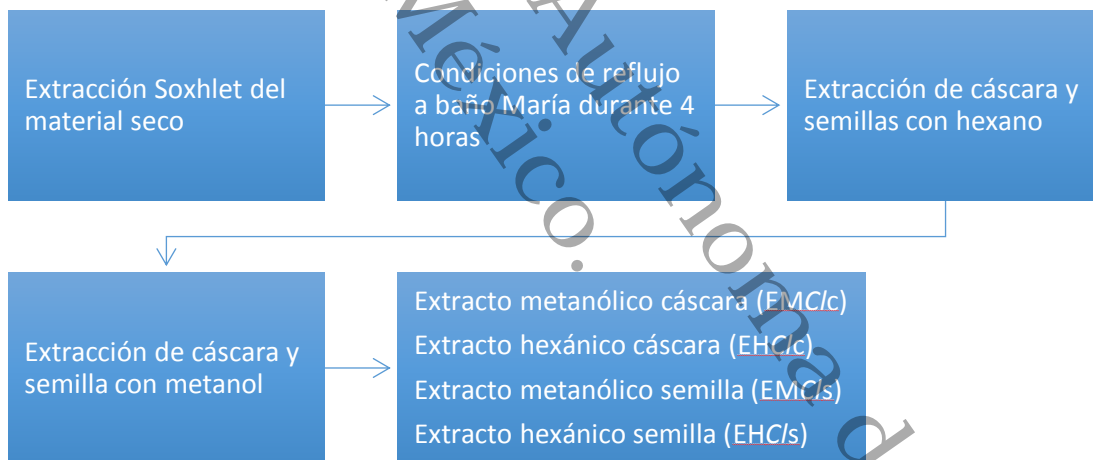


Figura 6.5 Metodología general para el proceso de extracción Soxhlet

A partir de 410.58 g de semilla y 301.9 g de cáscara del material vegetal seco y molido, se procedió a la extracción soxhlet para la obtención de los extractos de semilla y cáscara utilizando disolventes de polaridad ascendente como lo son hexano y metanol (figura 6.5)

Se sumergieron tres sistemas soxhlet, en una solución de 0.5 M HNO₃ un día antes de la extracción, para asegurar que estuviera libre de contaminantes.

Para cada extracción, la cantidad de disolvente colocada fue en relación 1:5 m/v con respecto a la muestra. La muestra se introdujo en dedales hechos con papel filtro abiertos por la parte de arriba (Figura 6.6), al comenzar la extracción se realizó en condiciones de reflujo a baño María durante 4 horas.⁹⁶



Figura 6.6 Extracción continua soxhlet empleada en la metodología

Se eliminaron los volátiles de los 4 extractos utilizando un rotavapor y posteriormente se liofilizaron (liofilizadora marca Heto Drywinner), para obtenerlos libres de disolventes y un mejor manejo en peso; una vez secos los extractos se pesaron y almacenaron para posteriormente determinar el rendimiento obtenido para cada uno.

6.4 Separación cromatográfica

Se realizó la separación mediante columna cromatográfica por gravedad en columnas de vidrio utilizando una relación de 1 g de extracto por 20 g de gel de sílice (SiO_2); usando como soporte gel de sílice 60 de malla 70-230 y tamaño de partícula 0.063 a 0.200 mm marca Merck®.

Se realizaron dos columnas cromatográficas, una para el EMC/s eluyendo las muestras en un sistema gradiente diclorometano 100 % a metanol 100% de la cual se obtuvieron 38 fracciones (figura 6.7); y otra para el EHC/c en un sistema hexano 100% a acetato de etilo 100% de la cual se obtuvieron 74 fracciones (figura 6.8).

Tabla 6.1 Fracciones obtenidas de la columna cromatográfica de EMCIs

Fracción	Sistema CH ₂ Cl ₂ /MeOH
1-3	100/0
4-8	90:10
9-14	80:20
15-19	70:30
20-28	60:40
29-33	50:50
34-38	0/100

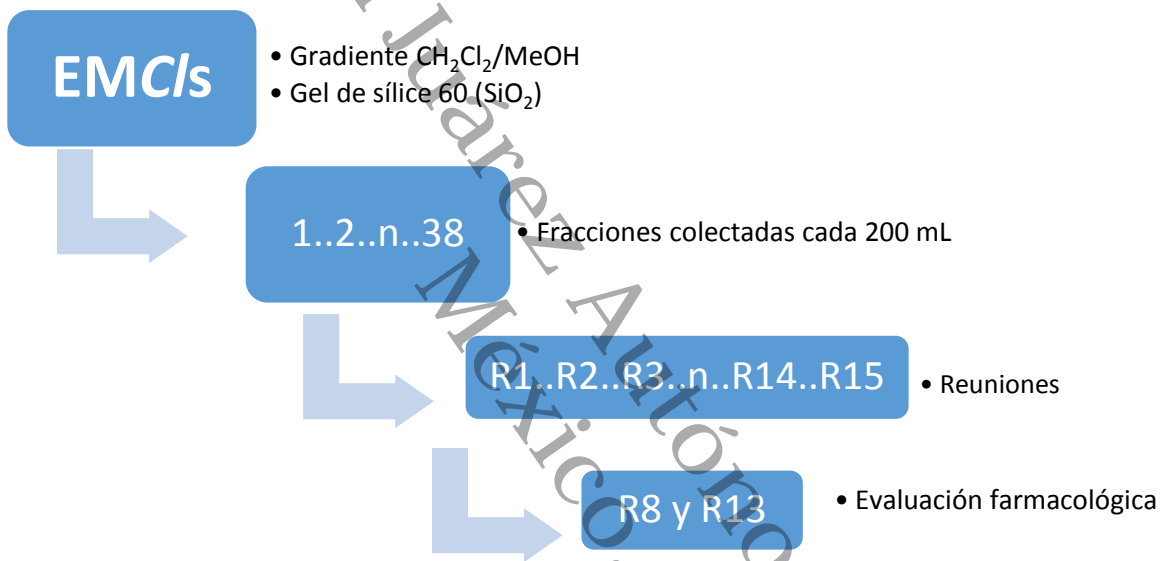


Figura 6.7 Procedimiento general para el análisis cromatográfico del EMCIs

Tabla 6.2 Fracciones de la columna EHC/c

Fracción	Hex/Ac.Et.
1-5	100:0
6-16	95:5
17-25	90:10
26-31	85:15
32-37	75:25
38-47	65:35
48-53	55:45
54-58	45:55
59-65	35:65
66-72	25:75
73-74	0:100

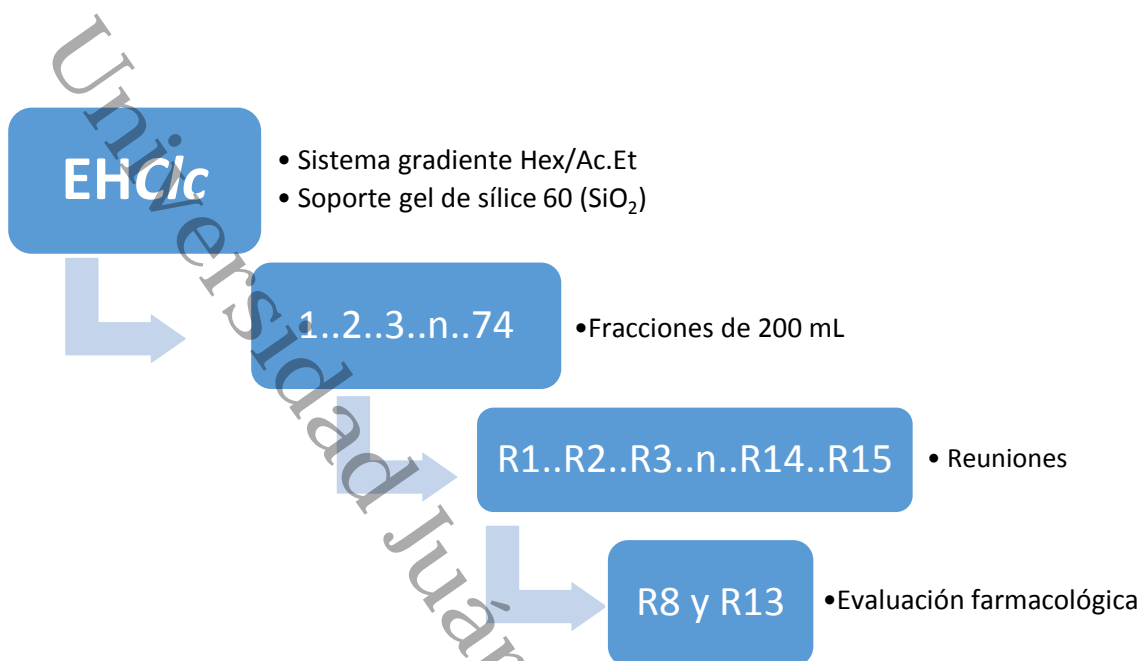


Figura 6.8 Procedimiento general para el análisis del EHC/c

Se monitoreó la separación de los compuestos mediante cromatografía en capa fina (CCF) en cromatofolios Merck® de gel de sílice 60 y para los compuestos más polares se utilizaron cromatofolios Merck® de sílice fase reversa. Las CCF fueron visualizadas con los siguientes reveladores: reactivo para flavonoides (difenilborinato de 2-aminometilo), 4-hidroxibenzaldehído, sulfato sérico amoniacal al 1% en ácido sulfúrico 2N, y mediante la desactivación de la fluorescencia del indicador de la CCF a la luz UV (lámpara UV portátil marca Mineralight UV 254/365 nm modelo UVSL-58).

6.5 Determinación del efecto hipoglucemiante en ratones normoglucémicos

Se utilizaron 30 ratones macho de la cepa CD-1 entre 22-30 g de peso con una edad de 3 meses, almacenados en condiciones estándar de laboratorio (temperatura 25°C, luz-oscuridad 12/12 horas, acceso libre a agua y alimento), basados en la NOM-ZOO-062-1999.⁹⁷

Para determinar el efecto hipoglucémico de los extractos obtenidos y así biodirigir el estudio hacia los que presentarán actividad hipoglucemiante. Se usaron los extractos obtenidos por soxhlet y algunas de sus fracciones previamente separadas por cromatografía. Se utilizó como vehículo una solución de Tween 20 al 5% en solución salina isotónica (control

negativo) contra la cual se compararon los grupos de tratamiento. Como fármaco de referencia se usó glibenclamida (control positivo) que funcionó para observar el comportamiento farmacológico de los extractos aplicados. Los extractos y fracciones se disolvieron por completo en el vehículo, la glibenclamida solamente se disolvió en solución salina isotónica.

Se determinaron los pesos de cada uno de los ratones en una balanza OHAUS® Scout Pro y se dividieron en 6 grupos de 5 ratones cada grupo (figura 6.9); a) control negativo tween 20 al 5% diluido en solución salina isotónica (4 mL/kg); b) control positivo glibenclamida (5 mg/kg); c) grupo extracto metanólico de la semilla EMC/s (300 mg/kg); d) grupo extracto metanólico de la cáscara EMC/c (300 mg/kg); e) grupo extracto hexánico de la semilla EHC/s (300 mg/kg), f) grupo extracto hexánico de la cáscara EHC/s (300 mg/kg).

También se evaluaron cuatro fracciones, obtenidas de la separación cromatográfica de los extractos (Figura 6.8), las cuales fueron: g) EMC/sR8, h) EMC/sR5, i) EHC/cR13, j) EHC/cR8 en una dosis de 100 mg/kg.

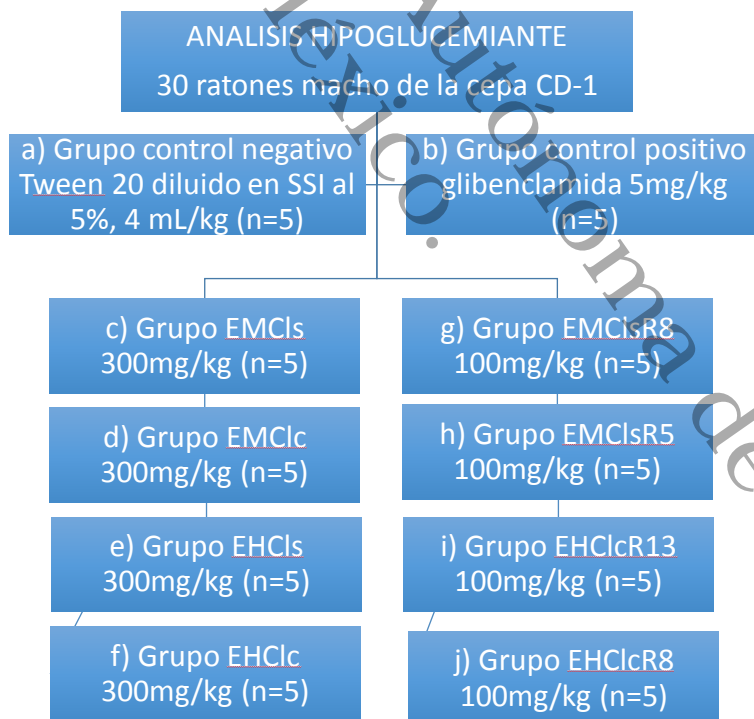


Figura 6.9 Grupos formados y dosis administradas (i.p.) en análisis hipoglucemiante, donde se usaron los extractos y fracciones

Después de un ayuno de 12 horas, se administraron los cuatro extractos y los controles vía intraperitoneal (0.1 mL por cada ratón), midiendo los valores de glucosa en los tiempos 0,2,4 y 6 horas post-administración con la técnica de incisión en el ápice de la cola hasta obtener una gota homogénea de sangre a aplicar en una tira reactiva (Accu-Chek® performance).

6.6 Determinación del efecto antidiabético en ratones administrados con aloxano

Se utilizaron 25 ratones macho de la cepa CD-1 entre 29-44 g en edad de 3 meses, almacenados en condiciones estándar de laboratorio (temperatura 25°C, luz-oscuridad 12/12 horas, acceso libre a agua y alimento), basados en la NOM-ZOO-062-1999.⁹⁷

Los ratones fueron diabetizados con aloxano (Sigma-Aldrich®) a una sola dosis de 100 mg/kg, administrando 0.2 mL a cada ratón por vía intravenosa usando la técnica de punción en la vena caudal.

Los grupos formados fueron: a) control negativo Tween 20 al 5% diluido en solución salina isotónica (4 mL/kg), b) control positivo glibenclamida (5 mg/kg), c) grupo extracto metanólico de la semilla reunión 5 EMC/sR5 (50 mg/kg), d) grupo extracto metanólico de la semilla EMC/s (50 mg/kg), e) grupo extracto hexánico de la semilla EHC/c (50 mg/kg).

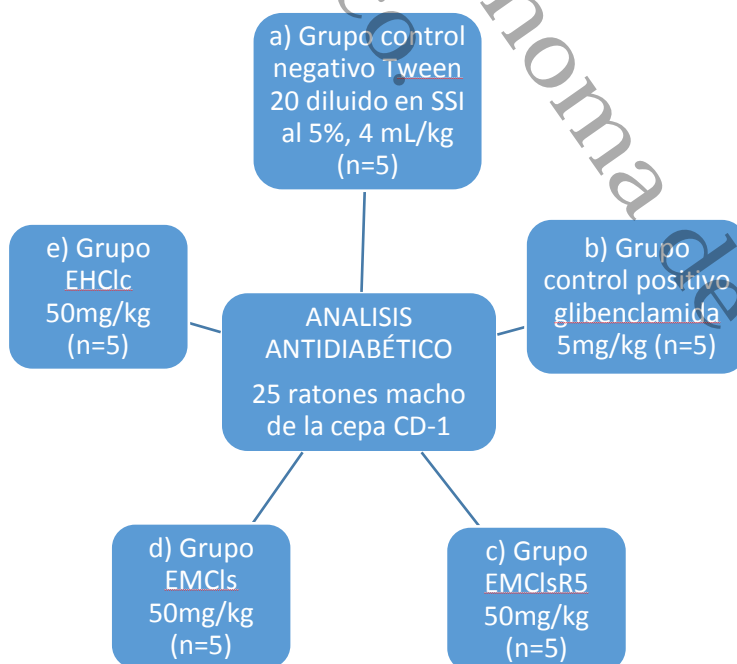


Figura 6.10 Grupos formados y dosis administradas (i.p.) en el análisis antidiabético

Al tener los ratones diabéticos (glucosa ≥ 200 mg/dL) y los grupos formados (figura 6.10), se continuó con la administración de los extractos, las fracciones (las más activas en el análisis normoglucémico) y los controles a las dosis indicadas a un volumen de 0.14 mL sin previo ayuno y midiendo los valores de glucosa a los tiempos 0, 0.5, 1, 2, 4 y 6 horas.

6.7 Datos y análisis

Para establecer la diferencia estadística significativa entre los grupos tratados y el control negativo, se utilizó una prueba de Análisis de Varianza de una vía (ANOVA) seguida de una prueba de Tukey y una prueba de Dunnet, estableciendo una diferencia estadística significativa con un valor $*p < 0.05$, usando el software IBM SPSS Statistics 23®.

Se realizó el análisis de los datos obtenidos en los análisis normoglucémicos y antidiabéticos, graficándolos como porcentaje de variación de la concentración de glucosa. Las gráficas se realizaron con el software GraphPad Prism 5®.

$$\% \text{ variación de glucosa} = \frac{G_x}{G_0} \times 100$$

Dónde: G_x = glucosa al tiempo x ; G_0 = glucosa inicial

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Obtención de los extractos

Se depositó una muestra de tallos, hojas, flores y frutos de la especie vegetal colectada. Fue identificada por la Dra. Nelly Jiménez Pérez encargada del herbario de la DACBioI como *Citrullus lanatus* con número de voucher 35848 e incorporado a la Colección de Plantas Vasculares, Herbario UJAT.

De los 30 frutos de sandía utilizados, se obtuvieron 410.58 g de semilla molida y seca, y 301.9 g de cáscara molida y seca, lo que se usó como material vegetal para la obtención de los extractos por soxhlet. Estos se llevaron a sequedad para dejarlos libres de disolventes; se realizó el cálculo del porcentaje de rendimiento (Tabla 7.1) para cada extracto mediante la siguiente fórmula.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{g de extracto seco}}{\text{g de planta seca}} \times 100$$

Tabla 7.1 Rendimiento de extractos

EXTRACTO	TOTAL (g)	RENDIMIENTO (%)
EMC/s	14.4	3.5
EMC/c	23	7.61
EHC/s	66.159	16.11
EHC/c	2.644	0.87

7.2 Análisis hipoglucemiante en ratones normoglucémicos

Se construyeron curvas dosis respuesta del efecto normoglucémico de los extractos: EMC/s, EMC/c, EHC/c y EHC/s.

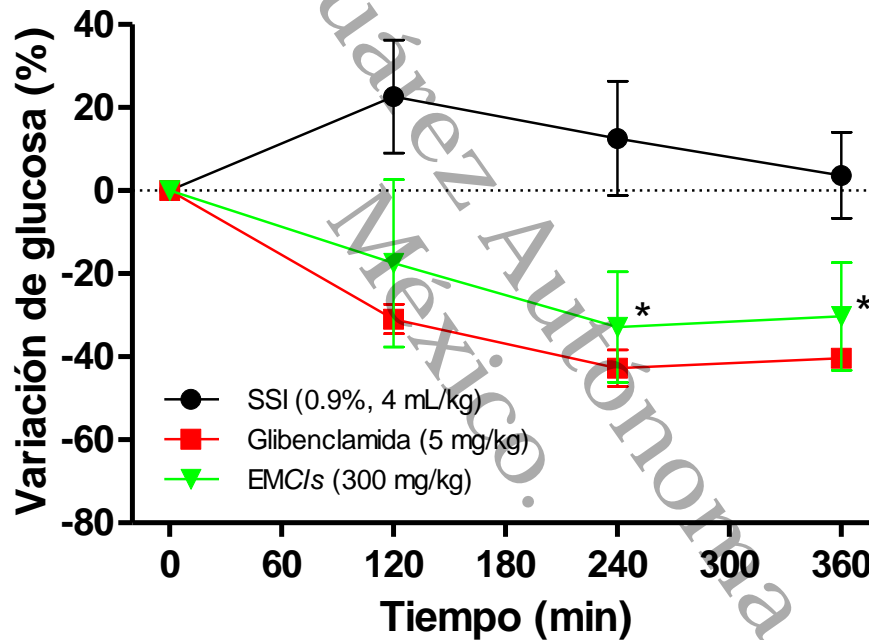
La SSI (4 mL/kg) usada como control negativo muestra un aumento en el porcentaje de variación de glucosa en los tiempos 120 y 240 min con respecto al tiempo cero; la glibenclamida, usado como fármaco de referencia, disminuyó los niveles de glucosa por debajo de los extractos de *C. lanatus* en todos los tiempos de análisis.

El EMC/s (grafica 7.1), mostró los mejores resultados con diferencias significativas en 240 y 360 min. Esto debido a que la fracción metanólica contiene compuestos fenólicos debido a su naturaleza polar, como diversos ácidos que han demostrado actividad antidiabética.⁷²

Durante el estudio del EMC/s (300 mg/kg) se observaron glucemias de hasta 20 mg/dL posterior a los 120 min de administración (teniendo como referencia valores normales de glucosa en ratones de 50-75 mg/dL,^{95,98}) por lo que se decidió ajustar las dosis a 100 mg/kg para los análisis posteriores.

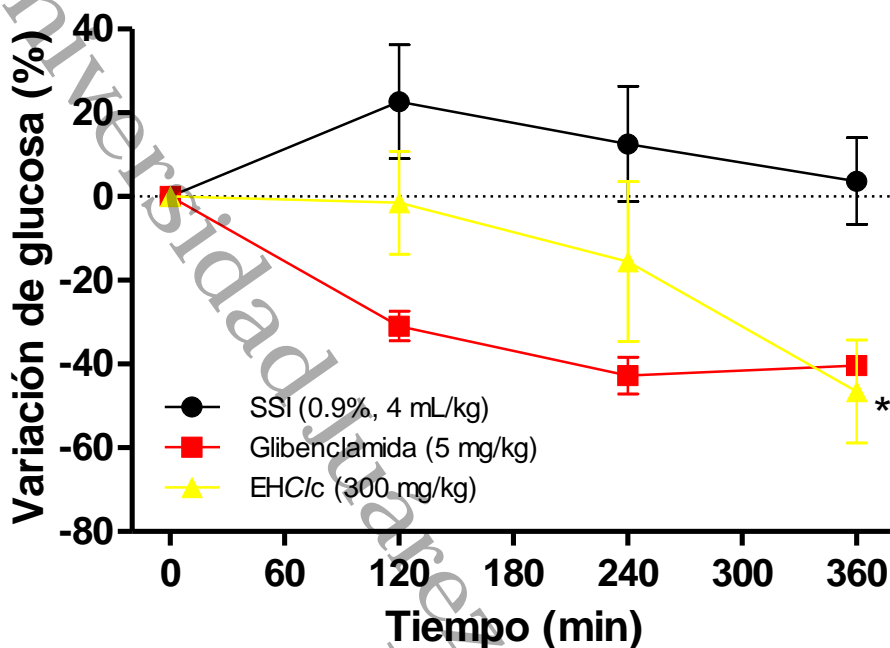
El EHC/c mostró diferencia estadística significativa a los 360 min de análisis y una tendencia en la disminución de los valores de glucosa. Por lo anterior, se eligieron estos extractos para continuar con su separación cromatográfica y su posterior análisis farmacológico.

Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EM C/s (i.p.)



Gráfica 7.1 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMC/s: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg) y EMC/s (300 mg/kg) en ratones CD-1 de. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

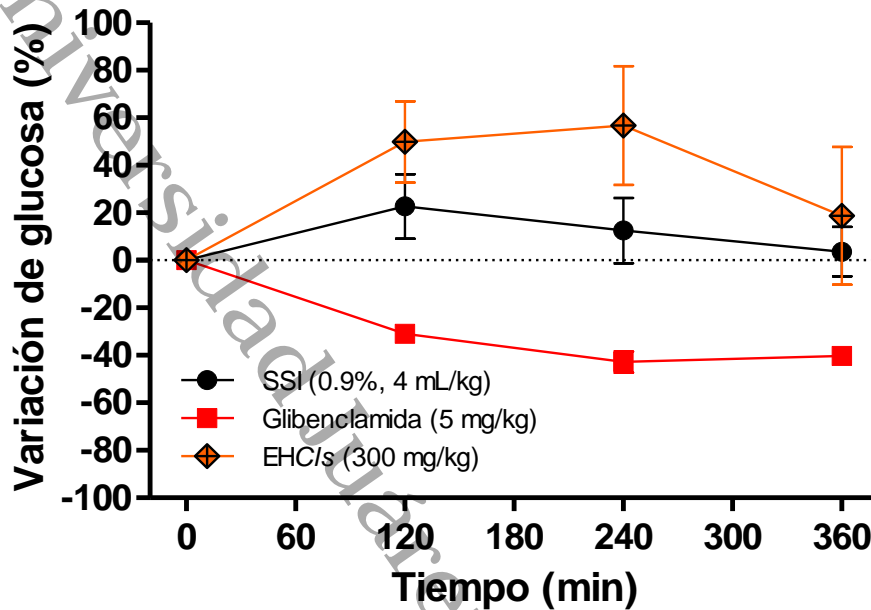
Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EHC/c (i.p.)



Gráfica 7.2 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHC/c: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg) y EHC/c (300 mg/kg) en ratones CD-1 de. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

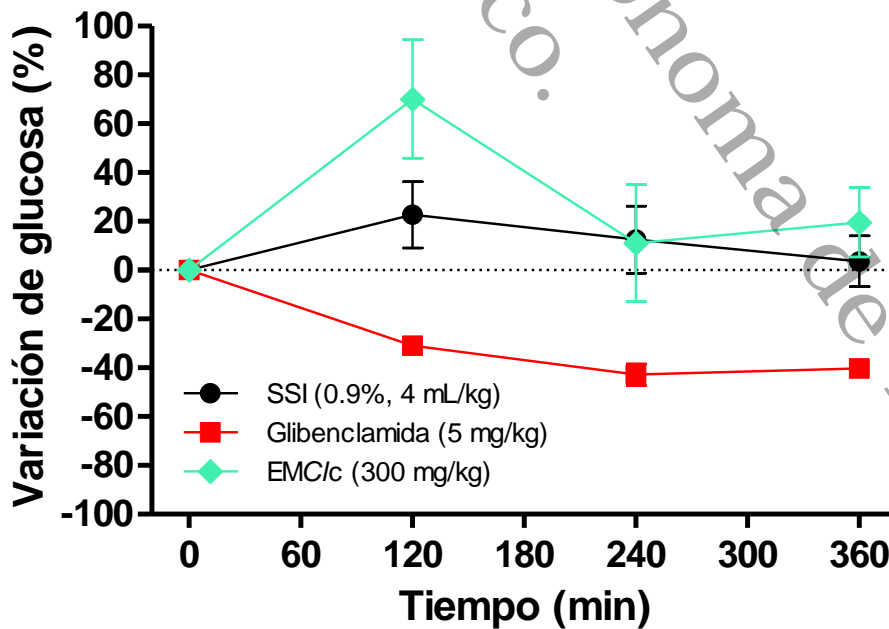
Para los EHC/c y EMC/c (grafica 7.3 y 7.4) se observó un aumento en los valores de glucosa aún más que el control negativo durante todos los tiempos de análisis, por lo que los metabolitos contenidos en el extracto hexánico de semilla no poseen actividad como hipoglucemiante. Con base en lo anterior, se decidió no continuar con su análisis farmacológico ni con su separación cromatográfica

Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EHC/s (i.p.)



Gráfica 7.3 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHC/s: SSI (4 mL/kg), glibenclámidica (5mg/kg) y EHC/s (300 mg/kg) en ratones CD-1 de. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EMC/c (i.p.)



Gráfica 7.4 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMC/c: SSI (4 mL/kg), glibenclámidica (5mg/kg) y EMC/c (300 mg/kg) en ratones CD-1 de. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

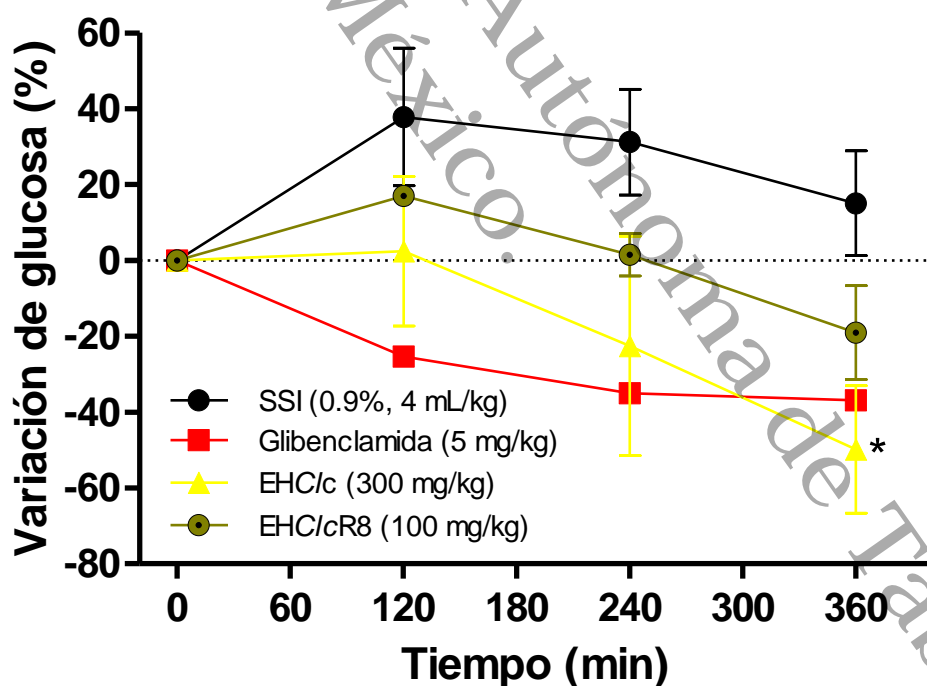
A continuación, se muestran los resultados de las reuniones obtenidas de los extractos que resultaron con actividad farmacológica positiva los cuales fueron el EHC/c y el EMC/s.

En las gráficas se comparan los resultados de las reuniones, el extracto correspondiente, el vehículo y la glibenclamida, la dosis de las reuniones de ajuste a 100 mg/kg.

La gráfica 7.5 muestra los porcentajes de variación de glucosa para la reunión 8 del extracto hexánico de la cáscara (EHC/cR8) la cual incluye las fracciones 29-33 de la columna cromatográfica del EHC/c con un peso de 49.5 mg correspondiente al sistema gradiente 85:15 Hexano/Ac. Et.

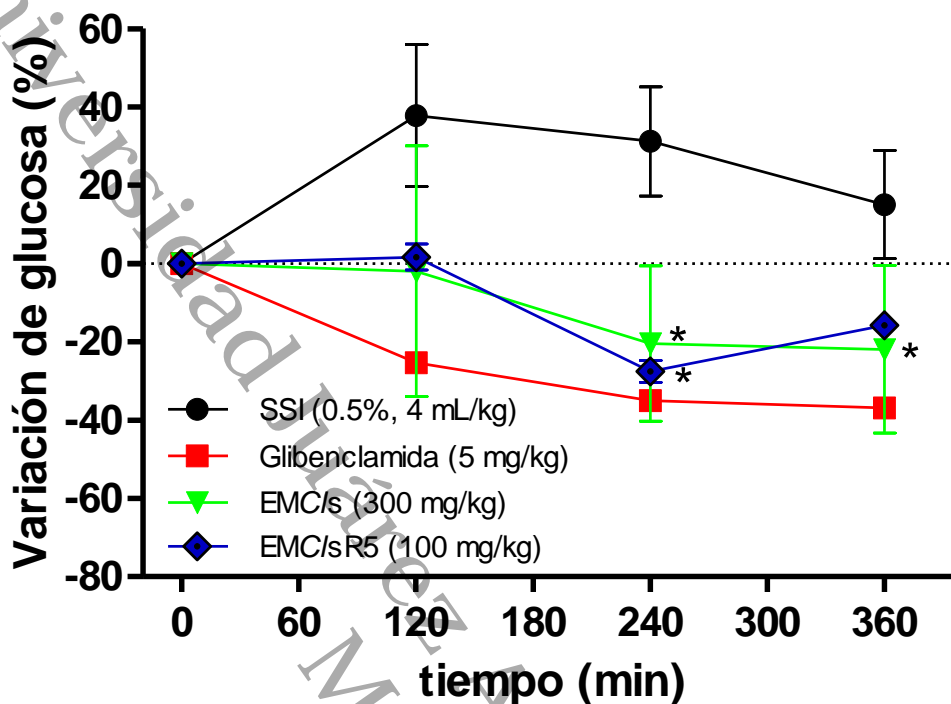
También se observa una tendencia similar en las curvas del extracto y su fracción; a pesar de si se disminuyeron los valores de glucosa, no se observó diferencia estadística de EHC/cR8 con respecto a la SSI.

Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EHC/cR8 (i.p.)



Gráfica 7.5 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EHC/cR8: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg), EHC/s (300 mg/kg) y EHC/cR8 (100 mg/kg) en ratones CD-1. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EM C/sR5 (i.p.)

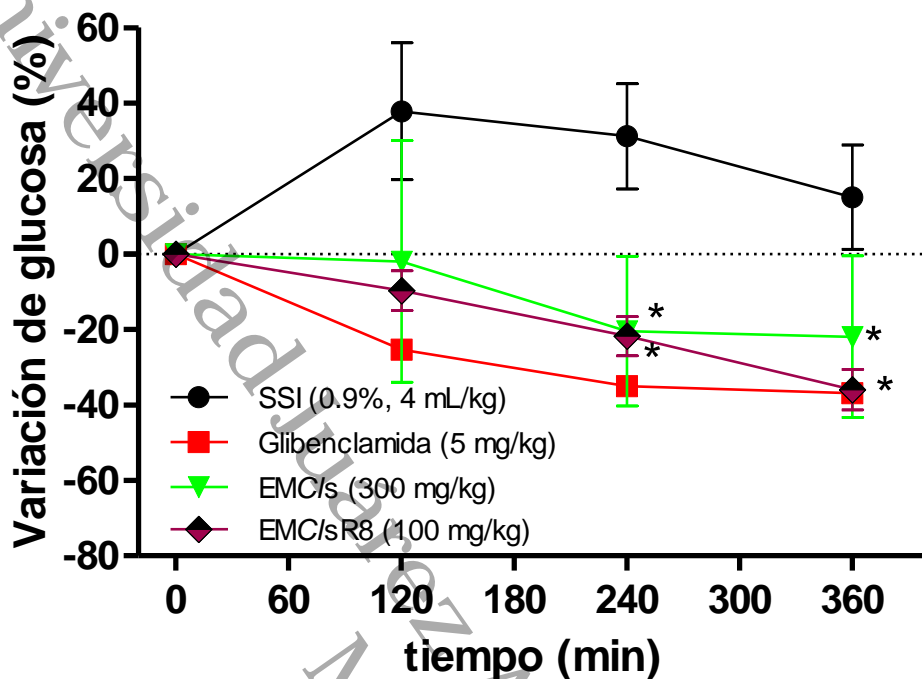


Gráfica 7.7 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMC/sR5: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg), EMC/s (300 mg/kg) y EMC/sR5 (100 mg/kg) en ratones CD-1. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

La gráfica 7.8 muestra los resultados para la reunión 8 del extracto metanólico de la semilla (EMC/sR8) la cual incluye las fracciones 25 y 26 de la columna cromatográfica del EMC/s con un peso de 0.5748 g correspondiente al sistema gradiente 60:40 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$.

Para esta reunión la curva muestra una tendencia a disminuir los valores de variación de glucosa, consiguiendo una eficacia similar a la glibenclamida con diferencia estadística significativa los tiempos 240 y 360 min con respecto a la SSI.

Variación de glucosa en ratones normoglucémicos EM C/sR8 (i.p.)



Gráfica 7.8 Curva dosis-respuesta del efecto hipoglucemiante del EMC/sR8: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg), EMC/s (300 mg/kg) y EMC/sR8 (100 mg/kg) en ratones CD-1. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

7.2 Análisis cromatográfico

Se realizó un estudio farmacológico del efecto hipoglucemiante de los 4 extractos y en base a los resultados, se realizaron dos columnas cromatográficas de los extractos obtenidos, una para el EMC/s y otra para el EHC/c.

Se impregnaron 5 g de muestra EMC/s en 7 g de sílice empacando la columna en 100 g de gel de sílice, utilizando un sistema gradiente de CH_2Cl_2 y MeOH, colectando las fracciones cada 200 mL de eluyente, los cuales se concentraban y se colocaban en viales de vidrio previamente pesados. Se inició el sistema de la columna con 600 mL de diclorometano al 100% aumentando gradualmente a 10% de metanol al cambiar de sistema, obteniéndose 38 fracciones en total (tabla 7.2).

Se realizó el monitoreo de la separación de los compuestos por CCF; las 38 fracciones obtenidas se observaron en una lámpara UV en la onda corta (254nm) y onda larga (365 nm) añadiendo un agente revelador siendo revelador para flavonoides (difenilborinato de 2-aminometilo) o 4-hidroxibenzaldehido.

Se realizó el análisis cromatográfico completo de las fracciones obtenidas, este análisis permite integrar las fracciones obtenidas en reuniones, dependiendo del sistema en el que fueron separadas y a lo observado en las CCF (Tabla 7.3).

Tabla 7.3 Separación por cromatografía en columna del EMC/s

Fracción	Mezcla CH ₂ Cl ₂ /MeOH	Clave de reunión EMC/s	Peso(g)	Observaciones
1 y 2	100:0	R1	0.107	Color amarillo
3-4	100:0	R2	0.038	Incoloro
5	90:10	R3	0.274	Amarillo intenso
6-9	90:10	R4	0.108	pp blanco
10-14	80:20	R5	0.574	<u>Evaluación farmacológica</u>
15-20	70:30	R6	0.227	
21-24	60:40	R7	0.793	pp pastoso
25 y 26	60:40	R8	0.450	Evaluación farmacológica
27-34	50:50	R9	1.089	pp blanco
35-38	0:100	R10	0.460	Abundante pp blanco

En la figura 7.1 a se muestra la CCF la cual contiene a R5. Se observó una intensa coloración amarilla al aplicar el revelador para flavonoides, lo cual indica posible presencia de dichos compuestos; igualmente se obtuvo cantidad suficiente, razón por la cual se decidió continuar con su análisis farmacológico. En la Figura 7.1 b se muestra la R8, fue tratada con revelador para flavonoides y se observó una intensa coloración azul, que puede indicar presencia de antocianinas; se obtuvo cantidad suficiente, razón por la cual se decidió continuar con su análisis farmacológico razón por la cual se decidió continuar con su análisis farmacológico.

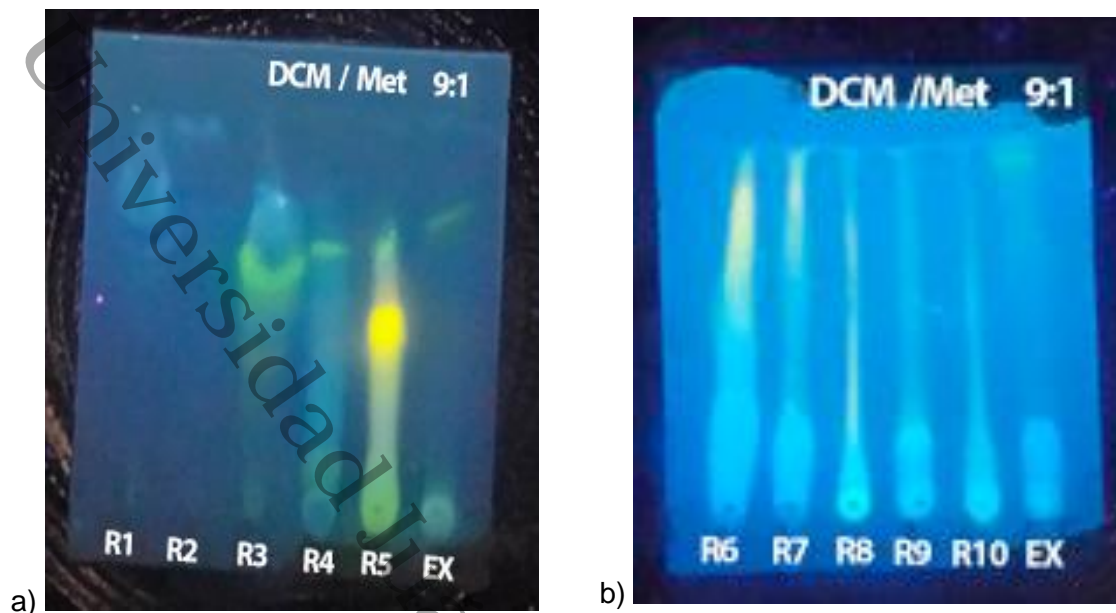


Figura 7.1 a) reuniones 1-5 en sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 90:10, aplicado el revelador flavonoides y observado en la onda larga (365nm). b) reuniones 6-10 en sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 70:30, aplicado el revelador flavonoides y observado en la onda larga (365nm).

Se realizó la separación cromatográfica del EHC/c. Para ello se adsorvieron 1.4193 g de EHC/c en 3 g de sílice, por la cantidad de muestra añadida se empacó la columna en 30 g de gel de sílice, se colectaron fracciones cada 50 mL, utilizando un sistema gradiente Hex/Ac.Et., a los cuales se colocaron en viales pesados, obteniendo un total de 74 fracciones iniciando con 250 mL de hexano al 100 % aumentando gradualmente 10 % de acetato de etilo al cambiar de sistema.

Se realizó el monitoreo de los compuestos por CCF de las 74 fracciones obtenidas, observándolas en una lámpara UV en la onda corta (254nm) y onda larga (365 nm) añadiendo 4-hidroxibenzaldehído para todas las placas

Posteriormente se secaron y se guardaron en viales para continuar con el análisis cromatográfico completo de la columna del EHC/c para formar las reuniones dependiendo del sistema del que fueron obtenidas y a lo observado en las CCF. Estas reuniones son las que se utilizarán para los análisis farmacológicos, los cuales están indicados en la Tabla 7.5.

Tabla 7.5 Análisis cromatográfico columna EHC/c

Fracción	Mezcla Hex/Ac.Et	Clave de reunión EHC/c	Peso (g)	Observaciones
1-3	100:0	R1	0.4826	Pp blanco
4-11	95:5	R2	0.0219	
12-14	95:5	R3	0.2452	Amarillo intenso
15-20	90:10	R4	0.0213	
21-22	90:10	R5	0.0177	
23-27	85:15	R6	0.0268	
28	85:15	R7	0.0016	
29-33	85:15	R8	0.0495	<u>Evaluación farmacológica</u>
34-43	75:25	R9	0.5891	
44-46	65:35	R10	0.0304	Verde
47-53	55:45	R11	0.0695	
54-62	45:55	R12	0.0640	
63-68	35:65	R13	0.0349	<u>Evaluación farmacológica</u>
69-72	25:75	R14	0.0714	
73-74	0:100	R15	0.0958	

La CCF mostró un compuesto de coloración azul intenso en R8 (figura 7.2 a), este puede ser un compuesto de interés al igual que la CCF de R13 (figura 7.2 b), en la cual se encontró un compuesto de coloración café el cual se observó solamente en dicha reunión.

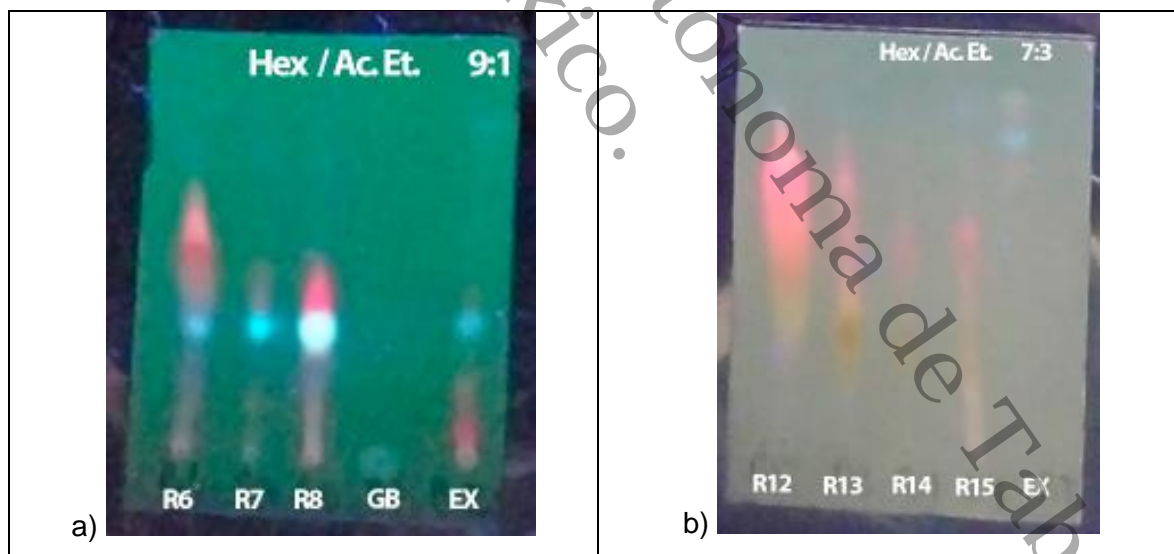


Figura 7.2 a) reuniones 6-8, sistema Hex/Ac.Et 90:10 (GB: glucósido de β -sitosterol), observadas en onda larga (365nm). b) reuniones 12-15 sistema Hex/Ac.Et 70:30, observadas en onda larga (365nm)

7.4 Determinación del efecto antidiabético en ratones administrados con aloxano

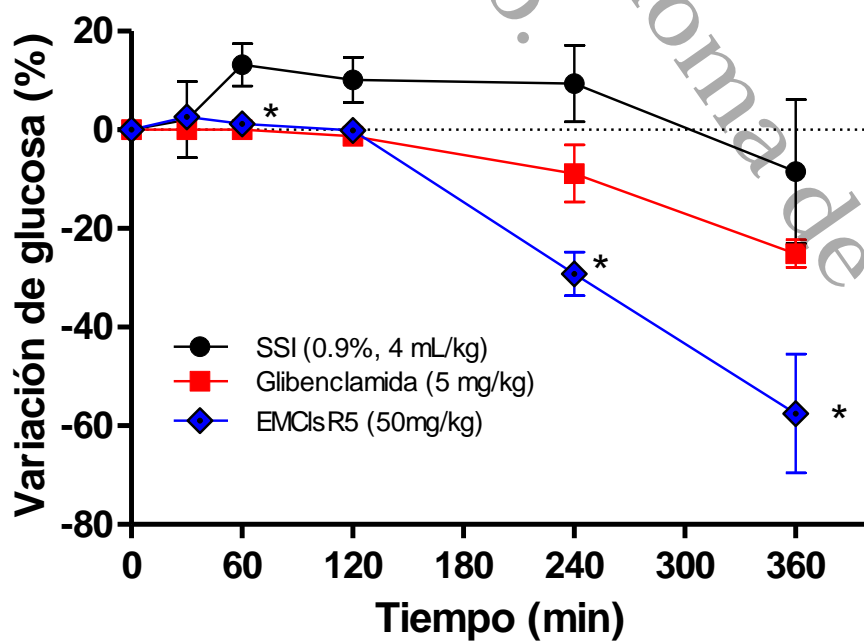
Para la diabetización se estableció un criterio de inclusión para ratones diabéticos que mostraran glucemias de ≥ 200 mg/dL, se presentaron síntomas visibles como poliuria y polidipsia a partir del tercer día post-administración del aloxano en los ratones con más bajo peso; igualmente en todos los ratones diabéticos durante los 7 días post-administración.

Con los resultados de los extractos y fracciones a los tiempos establecidos, se graficaron como porcentajes de variación de glucosa.

Muchos flavonoides han demostrado ser beneficiosos en la prevención de la diabetes, por lo que, como se observó en las CCF, la presencia de dichos compuestos en esta fracción, concuerdan con los resultados de EMC/sR5, una disminución significativa de los niveles de glucosa con respecto a los controles. Esto indica que en esta fracción se encuentran los componentes causantes de la acción hipoglucemiante del extracto metanólico.

Se muestran en la gráfica 7.9. En los tiempos 60 min, 240 min y 360 min se observa diferencia estadística significativa con respecto a SSI.

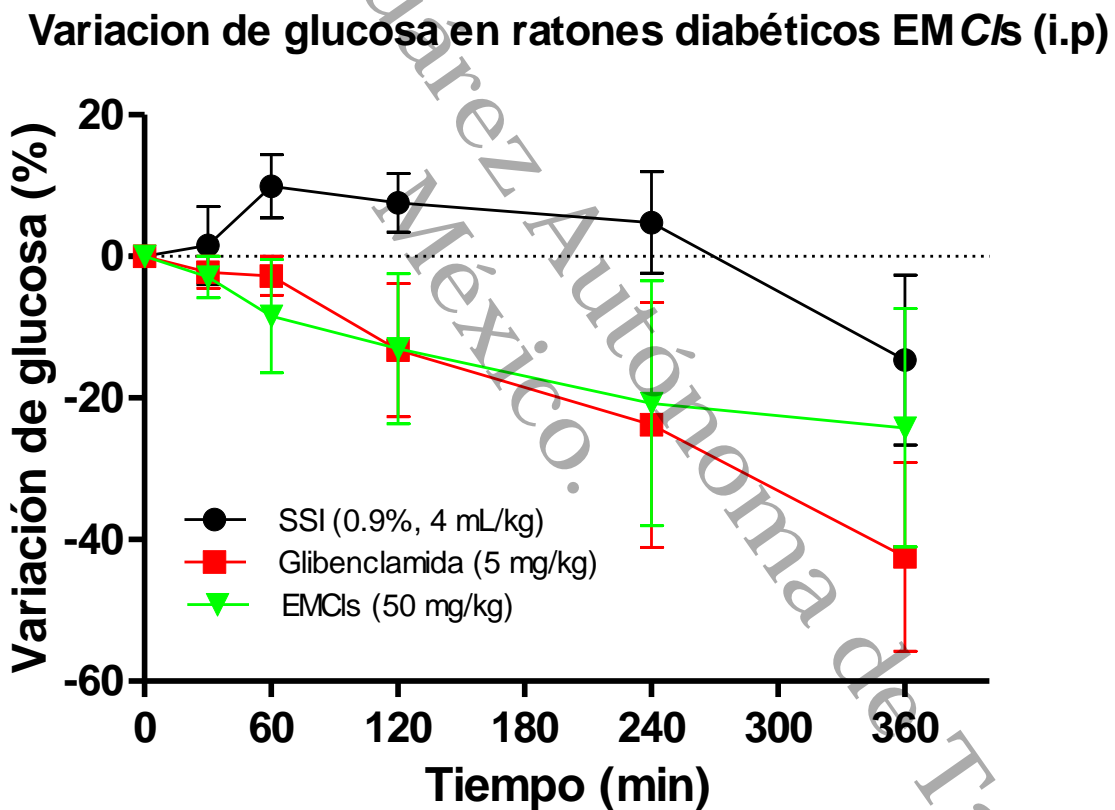
Variación de glucosa en ratones diabéticos EMC/sR5 (i.p)



Gráfica 7.9 Curva dosis-respuesta del efecto antidiabético del EMC/sR5: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg) y EMC/sR5 (50 mg/kg) en ratones CD-1. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (*p<0.05 vs control)

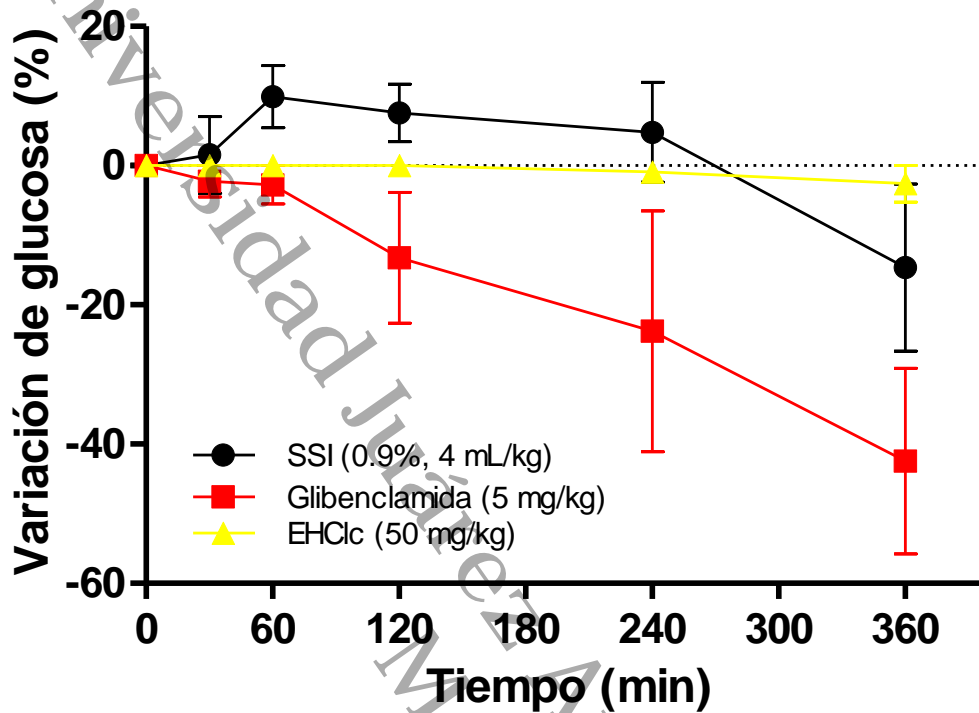
La grafica 7.10 muestra los resultados para el EMC/s donde se observa que se disminuyeron los niveles de glucosa, aunque no de manera significativa, esto a causa de que en este extracto se encuentra la fracción con mayor actividad hipoglucemiante.

Para el EHC/c (grafica 7.11), a pesar de los buenos resultados en el análisis con ratones normoglucémicos, para este estudio no observaron diferencias estadísticas significativas, ni variaciones en los niveles de glucosa,



Gráfica 7.10 Curva dosis-respuesta del efecto antidiabético del EMC/s: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg) y EMC/s (50 mg/kg) en ratones CD-1. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (*p<0.05 vs control)

Variación de glucosa en ratones diabéticos EHC/c (i.p.)



Gráfica 7.11 Curva dosis-respuesta del efecto antidiabético del EHC/c: SSI (4 mL/kg), glibenclamida (5mg/kg) y EHC/c (50 mg/kg) en ratones CD-1. Los resultados son expresados como el promedio \pm D.E. de 5 cinco experimentos (* $p < 0.05$ vs control)

8. CONCLUSIONES

En este estudio se demostró en un modelo experimental de ratones de diabetizados con aloxano, el uso de las semillas de *Citrullus lanatus* como fuente de moléculas y/o extractos con potencial efecto farmacológico para la diabetes.

Las pruebas farmacológicas demostraron que los extractos metanólicos de la semilla así como el extracto hexánico de la cáscara de *Citrullus lanatus* poseen actividad hipoglucemiante con una eficacia similar a la glibenclamida en ratones normoglucémicos; además, en ratones diabéticos, solo las fracciones del extracto metanólico de la semilla mostraron actividad hipoglucemiante con similar eficacia a la glibenclamida; esto indica que la molécula causante de dicha actividad se encuentra en los extractos y fracciones analizadas en este estudio.

Mediante procesos de separación cromatográfica, las fracciones que resultaron activas de *Citrullus lanatus* mostraron presencia de diversos compuestos lo que hace necesario continuar separando hasta llegar a purificarlos. También se observó un alto contenido de azúcares en las semillas de *Citrullus lanatus* lo que hace necesario el uso de métodos de separación de fase reversa tanto para sistemas de cromatografía en columna, de capa fina como de HPLC.

Por medio de un método científico, en este trabajo se corrobora el uso en medicina tradicional de *Citrullus lanatus* como tratamiento para la diabetes.

9. PERSPECTIVAS

9.1 Continuar la separación cromatográfica de las fracciones metanólicas de la semilla por cromatografía en columna y analizarlo por LC-MS

9.2 Purificar las fracciones y determinar su estructura por resonancia magnética nuclear

9.3 Desarrollar un modelo de diabetes en otros roedores para determinar el efecto antidiabético de todas las fracciones metanólicas de semilla de *Citrullus lanatus*.

9.4 Realizar estudios de toxicidad oral aguda y crónica de los extractos metanólicos en ratones CD-1 normoglucémicos.

9.5 Determinar mecanismos de acción mediante determinación de α -glucosidasas o factores insulínicos

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

10. BIBLIOGRAFIA

1. NOM-015-SSA2-2018. Secretaría de salud; 2018:430–439.
2. Prieto-Gómez B, Aguirre-Castañeda A, Saldaña-Lorenzo JA, León del Ángel JF, Moya-Simarro A. Síndrome metabólico y sus complicaciones: el pie diabético. *Rev la Fac Med*. 2017;60(4):7–18.
3. Velázquez L. *Farmacología Básica y Clínica*. 18a ed. Editorial Médica Panamericana; 2008.
4. Al-Dallen SM, Chávez Rodríguez T, Martínez Sánchez G, Ferreira Bega E, León Fernández OS. El equilibrio redox en la diabetes y sus complicaciones. *Acta Farm Bonaer*. 2004;23(2):231–242.
5. Ávalos García MI, de la Cruz Gallardo CM, Tirado Hernández C, García Pérez C, Barcelata Zavaleta A, Hernández Velázquez ME. Control metabólico en el paciente con diabetes mellitus tipo 2 en el municipio de Centla, Tabasco, México. *Salud en Tabasco*. 2007;13(2):625–639.
6. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes ATLAS*.; 2017.
7. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium*.; 2019.
8. Federación Mexicana de diabetes F. Diabetes en números. Diabetes en el mundo.
9. Instituto Nacional de Salud Pública I. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018*. Vol 1.; 2018.
10. Ovedo Mota MA, Espinosa Larrañaga F, Reyes Morales H, Trejo y Pérez JA, Gil Velázquez E. Guía clínica para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med IMSS*. 2004;41(Supl):1–21.
11. Varghese S, Narmadha R, Gomathi D, Kalaiselvi M, Devaki K. Evaluation of hypoglycemic effect of ethanolic seed extracts of *Citrullus lanatus*. *J Phytopharm*. 2013;2(6):31–40.
12. Erhirhie EO, Ekene NE. Medicinal Values on *Citrullus lanatus* (Watermelon): *Int J Res Pharm Biomed Sci*. 2013;4(4):1305–1312.
13. Alfaro J, Simal A, Botella F. Tratamiento de la diabetes mellitus. *Inf Ter Sist Nac*

- Salud*. 2000;24:33–43.
14. Gil Velázquez LE, Sil Acosta MJ, Domínguez Sánchez ER, Torres Arreola L del P, Medina Chávez JH. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2013;51(1):104–119.
 15. López Arredondo AA, Barquera Cervera S, González Cisneros N, et al. Asumiendo el control de la diabetes. *Fund Mídete*. Published online 2016:1–56.
 16. Ruiz Matus C, Revuelta Herrera A. *Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información*.; 2018.
 17. Ramírez García SA, Cabrera Pivaral CE, Huacuja Ruiz L, et al. Implicaciones en la atención primaria en salud de la genética y genómica en la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2013;51(3):e6–e26.
 18. Polonsky KS. The Past 200 Years in Diabetes. *N Engl J Med*. 2012;367(14):1332–1340.
 19. Cervantes D, Presno J. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Rev Endocrinol y Nutr*. 2013;21(3):98–106.
 20. American diabetes association. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2018. *Diabetes Care*. 2018;41(Supplement 1):S13–S27.
 21. Gavin JR, Davidson MB, De Fronzo RA, Drash A. *Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Vol 26.; 2003.
 22. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37(Supplement_1):S81–S90.
 23. Harrison TR, Kasper DL, Fauci AS, et al. *Principios de medicina interna Harrison vol.2*. 19a ed. (EDITORES M-HI, ed.); 2015.
 24. Cánovas B, Koning MA, Muñoz C. Nutrición Equilibrada En El Paciente Diabético. *Nutr Hosp*. Published online 2001:31–40.
 25. Rodríguez Lay G. Insulinoterapia. *Rev Medica Hered*. 2003;14(1):140–144.
 26. Kazamel M, Dyck PJ. Sensory manifestations of diabetic neuropathies: Anatomical and clinical correlations. *Prosthet Orthot Int*. 2015;39(1):7–16.

27. Taylor R, Agius L. The biochemistry of diabetes. *J Chem Educ.* 1988;250(6):625–640.
28. Brown H, Waugh N, Jennings P. Microangiopathy as a prognostic indicator in diabetic patients suffering from acute myocardial infarction. *Scott Med J.* 1992;37(2):44–46. doi:10.1177/003693309203700206
29. Romanelli G, Giustina A, Cimino A, et al. Short term effect of captopril on microalbuminuria induced by exercise in normotensive diabetics. *Biomed Pharmacother.* 1989;298(6669):284–288. doi:10.1136/bmj.298.6669.284
30. Stringer M, Gorog PG, Freeman A, Kakkar V V. Lipid peroxides and atherosclerosis. *Biomed Pharmacother.* 1990;44(1):62. doi:10.1016/0753-3322(90)90077-M
31. Borkman M, Chisholm DJ, Furler SM, et al. Effects of fish oil supplementation on glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Diabetes.* 1989;38(10):1314–1319. doi:10.2337/diab.38.10.1314
32. Nakamura S, Makita Z, Ishikawa S, et al. Progression of nephropathy in spontaneous diabetic rats is prevented by OPB-9195, a novel inhibitor of advanced glycation. *Diabetes.* 1997;46(5):895–899. doi:10.2337/diab.46.5.895
33. Frykberg RG. Diabetic foot ulcers: pathogenesis and management. *Am Fam Physician.* 2002;66(9):1655-1662 8p.
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ccm&AN=106838308&lang=pt-br&site=ehost-live>
34. Despaigne OLP. Efectividad de un programa educativo en pacientes con pie diabético de riesgo. *medisan.* 2015;19(1):69–77.
35. Díaz Hernández DP, Burgos Herrera LC. ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? *IATREIA.* 2002;15(3).
36. Goodman, Gilman. *Goodman & Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica.* Vol 11. 11a ed. (Bravo Valdéz A, ed.); 2007.
37. López GP, Albarrán OG, Megías MC. Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2): De la glucosuria renal familiar al tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Nefrología.* 2010;30(6):618–625. doi:10.3265/Nefrología.pre2010.Sep.10494.

38. Academia Biomédica Digital. Drogas antidiabéticas diferentes de la insulina. Mecanismos de acción. *Univ Cent Venez*. Published online 2016. http://vitae.ucv.ve/index_pdf.php?module=articulo&rv=124&n=5316&m=3&e=5327
39. Sanamé FAR, Álvarez MLP, Figueredo EA, Estupiñan MR. Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *CORREO CIENTÍFICO MÉDICO DE HOLGUÍN*. 2016;20(1):289–292. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1560-43812016000100009&script=sci_arttext&tlng=pt
40. Kattah W, Coral P, Méndez F. Evaluación del impacto de un programa de tratamiento y educación en la reducción de los niveles de hemoglobina glucosilada en pacientes diabéticos. *Acta Med Colomb*. 2d. C.;32(4):206–211.
41. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, et al. Exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33(12):2692–2696. doi:10.2337/dc10-1548
42. Rodríguez AP, Gouarnaluses MB. Algunas consideraciones sobre la diabetes mellitus y su control en el nivel primario de salud. *Medisan*. 2014;19(3):375–390.
43. Rodríguez JH, Puig MEL. Papel del ejercicio físico en las personas con diabetes mellitus. *Rev Cuba Endocrinol*. 2010;21(2):182–201.
44. Nieto martínez R. Actividad física en la prevención y tratamiento de la diabetes. *Rev Venez Endocrinol y Metab*. 2010;8(2):40–45.
45. Mata-Cases M, Artola S, Escalada J, et al. Consenso sobre la detección y el manejo de la prediabetes. Grupo de Trabajo de Consensos y Guías Clínicas de la Sociedad Española de Diabetes. *Aten Primaria*. 2015;47(7):456–468. doi:10.1016/j.aprim.2014.12.002
46. Hernández Yero A, Torres Herrera O, Carrasco Martínez B, et al. Tratamiento farmacológico de la prediabetes. *Rev Cuba endocrinol*. 2011;22(1):36–45.
47. Prado A. B, Gaete P. V, Corona H. F, Peralta V. E, Donoso A. P, Raimann T. X. Efecto metabólico de la metformina en adolescentes obesas con riesgo de diabetes mellitus tipo 2. *Rev la Soc Boliv Pediatría*. 2014;53(1):37–46.
48. Tasayco Yataco NJ. Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. *Fac Farm y Bioquímica*. Published online 2007.

49. Maedler K. Beta cells in type 2 diabetes - A crucial contribution to pathogenesis. *Diabetes, Obes Metab.* 2008;10(5):408–420. doi:10.1111/j.1463-1326.2007.00718.x
50. Aragón Alonso A, Oliván Palacios B, Manzano Arroyo P, Lucas Morante T. Las nuevas insulinas. *Inf Ter del Sist Nac Salud.* 2003;28:41–49. doi:10.1016/s1134-2072(03)75664-3
51. Vardanyan R, Hruby V. Hyperglycemic and Hypoglycemic Drugs. En: *Synthesis of Best-Seller Drugs.* ; 2016:419–458. doi:10.1016/b978-0-12-411492-0.00026-2
52. Doyle ME, Egan JM. Pharmacological Agents That Directly Modulate. *Pharmacol Rev.* 2003;55(1):105–131. doi:10.1124/pr.55.1.7.105
53. Puttagunta AL, Toth EL. Insulin lispro (Humalog), the first marketed insulin analogue: Indications, contraindications and need for further study. *Cmaj.* 1998;158(4):506–511.
54. de Luis DA, Romero E. Análogos de insulina: Modificaciones en la estructura, consecuencias moleculares y metabólicas. *Semergen.* 2013;39(1):34–40. doi:10.1016/j.semerg.2012.04.010
55. Sáez De La Fuente J, Granja Berna V, Ferrari Piquero JM, Valero Zanuy MÁ, Herreros De Tejada López Coterilla A. Tipos de insulino terapia. *Rev Clin Esp.* 2008;208(2):76–86. doi:10.1157/13115203
56. American diabetes association A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2011;34(1):562–569. doi:10.2337/dc11-S062
57. Pallardo Sánchez L. Sulfonilureas en el tratamiento del paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinol y Nutr.* 2008;55(SUPPL. 2):17–25. doi:10.1016/S1575-0922(08)76259-4
58. Zhou G, Goodyear LJ, Moller DE, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest.* 2001;108(8):1167–1174.
59. Bedekar A, Shah K, Koffas M. Natural Products for Type II Diabetes Treatment. En: *Advances in applied microbiology.* Vol 71. 1a ed. Elsevier Inc.; 2010:21–73. doi:10.1016/S0065-2164(10)71002-9
60. Nauck M. Update on developments with SGLT2 inhibitors in the management of

- type 2 diabetes. *Drug Des Devel Ther.* 2014;21(4):1335. doi:10.2147/DDDT.S50773
61. Freeman JS. Review of insulin-dependent and insulin-independent agents for treating patients with type 2 diabetes mellitus and potential role for sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors. *Postgrad Med.* 2013;125(3):214–226. doi:10.3810/pgm.2013.05.2672
 62. Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab.* 2006;3(3):153–165. doi:10.1016/j.cmet.2006.01.004
 63. Mathiesen DS, Bagger JI, Bergmann NC, et al. The effects of dual GLP-1/GIP receptor agonism on glucagon secretion—a review. *Int J Mol Sci.* 2019;20(17):4092. doi:10.3390/ijms20174092
 64. Nissen A, Christensen M, Knop FK, Vilsbøll T, Holst JJ, Hartmann B. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide inhibits bone resorption in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(11):E2325–E2329. doi:10.1210/jc.2014-2547
 65. Koffert J, Honka H, Teuvo J, et al. Effects of meal and incretins in the regulation of splanchnic blood flow. *Endocr Connect.* 2017;6(3):179–187. doi:10.1530/EC-17-0015
 66. Itou M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sata M. Dipeptidyl peptidase-4: A key player in chronic liver disease. *World J Gastroenterol.* 2013;19(15):2298–2306. doi:10.3748/wjg.v19.i15.2298
 67. Akter R, Cao P, Noor H, et al. Islet Amyloid Polypeptide: Structure, Function, and Pathophysiology. *J Diabetes Res.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/2798269
 68. Staels B. A review of bile acid sequestrants: Potential mechanism(s) for glucose-lowering effects in type 2 diabetes mellitus. *Postgrad Med.* 2009;121(3). doi:10.3810/pgm.2009.05.suppl53.290
 69. Luo S, Meier AH, Cincotta AH. Bromocriptine reduces obesity, glucose intolerance and extracellular monoamine metabolite levels in the ventromedial hypothalamus of Syrian hamsters. *Neuroendocrinology.* 1998;68(1):1–10. doi:10.1159/000054344
 70. Kleinberger JW, Pollin TI. Personalized medicine in diabetes mellitus: current opportunities and future prospects. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1346(1):45–56. doi:10.1111/nyas.12757

71. David B, Wolfender J-L, Dias DA. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochem Rev.* 2015;14(2):299–315. doi:10.1007/s11101-014-9367-z
72. Munhoz ACM, Frode TS. Isolated Compounds from Natural Products with Potential Antidiabetic Activity - A Systematic Review. *Curr Diabetes Rev.* 2017;14(1):36–106. doi:10.2174/1573399813666170505120621
73. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod.* 2020;83(3):770–803. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b01285
74. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(6):3670–3695. doi:10.1016/j.bbagen.2013.02.008
75. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod.* 2016;79(3):629–661. doi:10.1021/acs.jnatprod.5b01055
76. Makarova E, Górnas P, Konrade I, et al. Acute anti-hyperglycaemic effects of an unripe apple preparation containing phlorizin in healthy volunteers: a preliminary study. *J Sci Food Agric.* 2015;95(3):560–568. doi:10.1002/jsfa.6779
77. Nelson-Dooley C, Della-Fera M, Hamrick M, Baile C. Novel Treatments for Obesity and Osteoporosis: Targeting Apoptotic Pathways in Adipocytes. *Curr Med Chem.* 2005;12(19):2215–2225. doi:10.2174/0929867054864886
78. Schäfer A, Högger P. Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol®) effectively inhibit α -glucosidase. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77(1):41–46. doi:10.1016/j.diabres.2006.10.011
79. Ganesan A. The impact of natural products upon modern drug discovery. *Curr Opin Chem Biol.* 2008;12(3):306–317. doi:10.1016/j.cbpa.2008.03.016
80. Ríos J, Francini F, Schinella G. Natural Products for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Planta Med.* 2015;81(12/13):975–994. doi:10.1055/s-0035-1546131
81. Ospina G LF, Pinzón Serrano R. Plantas usadas como antidiabéticas en la medicina popular colombiana. *Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas.* 1995;23(23):81–94.

82. Sheng Z, Dai H, Pan S, Wang H, Hu Y, Ma W. Isolation and characterization of an α -glucosidase inhibitor from musa spp. (Baxijiao) flowers. *Molecules*. 2014;19(7):10563–10573. doi:10.3390/molecules190710563
83. Esquivel-gutiérrez ER, Noriega-cisneros R, Bello-gonzález MA, Saavedra- A. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. 2012;(July).
84. Teugwa CM, Boudjeko T, Tchinda BT, Mejiato PC, Zofou D. Anti-hyperglycaemic globulins from selected Cucurbitaceae seeds used as antidiabetic medicinal plants in Africa. *BMC Complement Altern Med*. 2013;13. doi:10.1186/1472-6882-13-63
85. Muhd Sani U. Phytochemical screening and antidiabetic effect of extracts of the seeds of Citrullus lanatus in alloxan-induced diabetic albino mice. *J Appl Pharm Sci*. 2015;5(3):51–54. doi:10.7324/JAPS.2015.50309
86. Oyiela Onyango AM. African Indigenous Vegetables in Kenya: Strategic Repositioning in the Horticultural Sector. *researchgate*. 2010;(June):65.
87. Ajithdas A, Vijayalakshmi K, Karthikeyan V. Anti Diabetic Screening of Methanolic Extract of Citrullus lanatus Leaves. *Am J PharmTech Res* 2014;. 2014;4(4):295–323.
88. Gill N, Bansal R, Garg M, Sood S, Muthuraman A, Bali M. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and analgesic potential of Citrullus lanatus seed extract in rodent model. *Internet J Nutr Wellness*. 2010;9(2):1–7. doi:10.5580/1dac
89. Madhavi P, Vakati K, Rahman H. Hepatoprotective Activity of Citrullus Lanatus Seed Oil on CCl 4 Induced Liver Damage in Rats. *Sch Acad J Pharm*. 2012;1(1):30–33.
90. Raziq S, Anwar F, Mahmood Z, Shahid SA, Nadeem R. Caracterización de aceites de semillas de diferentes variedades de sandía [Citrullus lanatus] procedentes del Pakistán. *GRASAS Y ACEITES*. 2012;63(4):365–372. doi:10.3989/gya.022212
91. Jimoh TO, Ademiluyi AO, Oboh G, Boligon AA. Phenolic extracts and amino acids content from Cucumeropsis manni naudin and Citrullus lanatus inhibit relevant enzymes of erectile dysfunction in rat's penile tissue. *Biochem Biophys Reports*. 2017;12(March):5–11. doi:10.1016/j.bbrep.2017.08.001

92. OMS (Organización Mundial de la Salud). Prevalencia de la diabetes y de los factores de riesgo conexos en México. 1. Published online 2016:1.
93. Sule OJ, Arhoghro ME. Effect of Water Melon (Citrullus Lanatus) on Serum Glucose Level and Various Protein Parameters in Acetaminophen-Induced Wistar Albino Rats. *Pharm Chem J*. 2016;3(2):168–172.
94. Josephson B. A modified soxleth apparatus for extraction of series of samples without dismantling. *Clin Chim Acta*. 1964;10(3):290–291. doi:10.1016/0009-8981(64)90151-2
95. Vega-Ávila E, Cano-Velasco JL, Alarcón-Aguilar FJ, Fajardo Ortíz MDC, Almanza-Pérez JC, Román-Ramos R. Hypoglycemic activity of aqueous extracts from catharanthus roseus. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2012;2012. doi:10.1155/2012/934258
96. Vega-Ávila E, Cano-Velasco JL, Alarcón-Aguilar FJ, Fajardo Ortíz MDC, Almanza-Pérez JC, Román-Ramos R. Hypoglycemic activity of aqueous extracts from catharanthus roseus. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2012;2012. doi:10.1155/2012/934258
97. *NOM-062-ZOO-1999*. Secretaría de salud; 1999:1–58.
98. Alarcon-Aguilar FJ, Fortis-Barrera A, Angeles-Mejia S, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of a hypoglycemic fructan fraction from Psacalium peltatum (H.B.K.) Cass. in streptozotocin-induced diabetes mice. *J Ethnopharmacol*. 2010;132(2):400–407. doi:10.1016/j.jep.2010.08.003