

UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

División Académica de Ciencias de la Salud



“Estudio biodirigido de la actividad antidiabética del extracto clorofórmico de la hoja de *Carica papaya*.”

**Tesis que para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias Biomédicas**

Presenta:

Q.F.B. Juan Daniel Cruz Castillo

Directores:

Dr. Abraham Gómez Rivera

Dra. Isela Esther Juárez Rojop

Villahermosa, Tabasco.

Enero, 2024



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Dirección



2024
Felipe Carrillo
PUERTO

Villahermosa, Tabasco, 19 de enero de 2024

Of. No.0047/DIRECCIÓN/DACS

ASUNTO: Autorización de impresión de tesis

C. Juan Daniel Cruz Castillo
Maestría en Ciencias Biomédicas
Presente

Comunico a Usted, que autorizo la impresión de la tesis titulada **"Estudio biodirigido de la actividad antidiabética del extracto clorofórmico de la hoja de Carica papaya"**, con índice de similitud 1% y registro del proyecto de investigación **No. JI-PG-176**; previamente revisada y aprobada por el Comité Sinodal, integrado por los Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárata, Dra. Thelma Beatriz González Castro, Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego, Dra. Isela Esther Juárez Rojop y el Dr. Abraham Gómez Rivera. Lo anterior para sustentar su trabajo recepcional de la **Maestría en Ciencias Biomédicas**, donde fungen como Directores de tesis los Dra. Isela Esther Juárez Rojop y el Dr. Abraham Gómez Rivera.

Atentamente


Dra. Mirian Carolina Martínez López
Directora

UJAT



DACS
DIRECCIÓN

C.c.p.- Dra. Isela Esther Juárez Rojop – Director de Tesis y Sinodal
C.c.p.- Dr. Abraham Gómez Rivera – Director de Tesis y Sinodal
C.c.p.- Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárata – Sinodal
C.c.p.- Dra. Thelma Beatriz González Castro – Sinodal
C.c.p.- Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego - Sinodal

C.c.p.- Archivo
DRA HSP/Wag*

Miembro CUMEX desde 2008
Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA ALAMBA DE CALIDAD POR LA EDUCACION SUPERIOR

Av. Crnel. Gregorio Méndez Magaña, No. 2838-A,
Col. Tamulté de las Barrancas,

C.P. 86150, Villahermosa, Centro, Tabasco

Tel.: (993) 3581500 Ext. 6300, e-mail: direccion.dacs@ujat.mx



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de Villahermosa, Tabasco, siendo las 11:00 horas del día 15 del mes de enero de 2024 se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la División Académica de Ciencias de la Salud para examinar la tesis de grado titulada:

"ESTUDIO BIODIRIGIDO DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE LA HOJA DE Carica papaya"

Presentada por el alumno (a):

Cruz Castillo Juan Daniel
Apellido Paterno Materno Nombre (s)

Con Matrícula

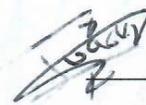
2	2	1	E	5	7	0	0	4
---	---	---	---	---	---	---	---	---

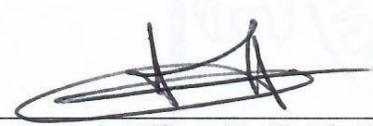
Aspirante al Grado de:

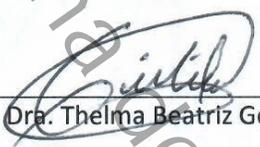
Maestro en Ciencias Biomédicas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS** en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

COMITÉ SINODAL


Dra. Isela Esther Juárez Rojop
Dr. Abraham Gómez Rivera
Directores de Tesis


Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárate


Dra. Thelma Beatriz González Castro


Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego


Dra. Isela Esther Juárez Rojop


Dr. Abraham Gómez Rivera

Carta de Cesión de Derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 18 del mes de enero del año 2024, el que suscribe, Juan Daniel Cruz Castillo, alumno del programa de la Maestría en Ciencias Biomedicas, con número de matrícula 221E57004 adscrito a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autor intelectual del trabajo de tesis titulada: **“Estudio biodirigido de la actividad antidiabética del extracto clorofórmico de la hoja de *Carica papaya*”**, bajo la Dirección de la Dra. Isela Esther Juárez Rojop y el Dr. Abraham Gómez Rivera, Conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31. El alumno cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a través de las direcciones electrónicas siguientes: 221E57004@egresados.ujat.mx y isela.juarez@ujat.mx. Si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Juan Daniel Cruz Castillo



Dedicatorias

A mi familia, gracias por su apoyo incondicional. Les dedico este logro con mucho amor.

A mis directores de tesis, Dra. Isela Esther Juárez Rojop y Dr. Abraham Gómez Rivera, les agradezco por su orientación, paciencia y dedicación constante. Gracias por confiar en mí e impulsarme a superarme en el ámbito personal y académico.

A mis compañeros de laboratorio, gracias por compartir momentos importantes durante toda la maestría.

A Dios, por guiarme siempre y por nunca abandonarme.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por otorgarme la beca (812490) que posibilitó la realización de mis estudios de maestría.

Asimismo, agradezco al Q.C. Juan Carlos Méndez López por su importante colaboración en la fase experimental de esta investigación.

Extiendo mi reconocimiento al Dr. Ricardo López Rodríguez de la División Académica de Ciencias Básicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por su orientación en el análisis de espectros UV.

De igual manera, agradezco al Dr. Juan Cuauhtémoc Díaz Zagoya y al Q.F.B. Rodrigo Miranda Zamora de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, por recibirme en su laboratorio y brindarme las facilidades necesarias para llevar a cabo la fase experimental de este trabajo.

Por último, quiero expresar agradecimiento a mis asesores de tesis, la Dra. Thelma Beatriz González Castro, el Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zarate y la Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego, por su orientación en cada seminario, la cual contribuyó a enriquecer este trabajo.

Índice

Índice de tablas	i
Índice de figuras	ii
Abreviaturas y siglas	iii
Resumen	iv
Abstract	v
1. Introducción	1
1.1. Diabetes	1
1.2. Enfoques terapéuticos para la diabetes	2
1.3. Plantas medicinales	3
1.4. Metabolitos de las plantas	3
1.5. Fitoquímica y compuestos bioactivos	4
1.6. Métodos de extracción y fraccionamiento	5
1.7. <i>Carica papaya</i>	6
1.8. Extractos de la hoja de <i>C. papaya</i> con actividad antidiabética	7
1.9. Técnicas cromatográficas	8
1.10. Modelos experimentales de diabetes en ratas	9
2. Planteamiento de problema	12
3. Justificación	13
4. Hipótesis	14
5. Objetivos	14
6. Metodología	15
6.1. Recolección de material vegetal	15
6.2. Preparación del extracto clorofórmico de hoja de <i>C. papaya</i>	16
6.3. Fraccionamiento en columna y análisis por cromatografía en capa fina	16
6.4. Análisis HPLC-DAD	17
6.5. Animales	18
6.6. Inducción de diabetes	20
6.7. Diseño experimental	20
6.8. Determinación del peso corporal y glucosa en ayunas	21
6.9. Parámetros bioquímicos	21
6.10. Análisis estadístico	22

7. Resultados	23
7.1. Fracciones del extracto clorofórmico de la hoja de <i>C. papaya</i>	23
7.2. Análisis de la composición fitoquímica de CpC y fracciones.....	25
7.3 Efecto de las fracciones sobre la glucosa en ayunas y el peso corporal	27
7.4 Efecto de las fracciones en los parámetros bioquímicos en suero	27
8. Discusión.....	31
8.1. Contenido fitoquímico de fracciones del extracto clorofórmico de hojas de <i>C. papaya</i>	31
8.2. Actividad hipoglucemiante de las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de <i>C. papaya</i>	32
8.3. Actividad hipolipemiante de las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de <i>C. papaya</i>	34
8.4. Actividad hepatoprotectora de las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de <i>C. papaya</i>	36
9. Conclusión.....	39
10. Bibliografía	40
Anexo A. Cromatogramas TLC	47
Anexo B. Cromatogramas HPLC.....	51
Anexo C. Espectros UV-Vis de picos	54
Anexo D. Espectros UV-Vis de estándares.....	65
Anexo E. Productos generados durante la maestría.....	68

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Índice de tablas

Tablas		Pág.
Tabla 1	Gradiente de elución para HPLC	18
Tabla 2	Guía ARRIVE 2.0	19
Tabla 3	Fracciones obtenidas	23
Tabla 4	Perfil fitoquímico del extracto y fracciones	26
Tabla 5	Efecto de las fracciones en parámetros bioquímicos	30

Índice de figuras

Figura		Pág.
Figura 1	Planta de <i>C. papaya</i>	6
Figura 2	Toxicidad de la estreptozotocina en las células β del páncreas	11
Figura 3	Esquema general de la metodología	15
Figura 4	Diseño experimental	21
Figura 5	Placas cromatográficas del extracto clorofórmico y fracciones.	24
Figura 6	Efecto de las fracciones en los niveles de glucosa	28
Figura 7	Efecto de las fracciones en el peso corporal	29
Figura 8	Actividad antidiabética de <i>C. papaya</i>	38

Abreviaturas y siglas

ABC	Área bajo la curva
Akt	Proteína quinasa B
AST	Aspartato transaminasa
ALT	Alanina transaminasa
ALP	Fosfatasa alcalina
AMP	Monofosfato de adenosina
Col	Colesterol
COX-2	Ciclooxigenasa-2
CpC	Extracto cloroformico de hojas de <i>C. papaya</i>
DAD	Detector de matriz de diodos
R_f	Factor de retención
GABA	Ácido gamma-aminobutírico.
GLUT4	Transportador de glucosa 4
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
i.p.	Inyección intraperitoneal
IRS-1	Sustrato del receptor de insulina 1
NF-κB	Factor nuclear κB
PPARγ	Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma
SEM	Error estándar
TCF7L2	Factor de transcripción 7 similar a 2
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa

Resumen

Las hojas de *Carica papaya* han mostrado efecto hipoglucemiante en modelos de diabetes en roedores. El objetivo de este trabajo fue identificar el contenido fitoquímico de las fracciones de un extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* y evaluar su actividad antidiabética en ratas con diabetes inducida. El extracto de *C. papaya* fue preparado en un extractor Soxhlet y fraccionado mediante cromatografía en columna usando una combinación de hexano y acetato de etilo (v/v; gradiente del 5%). De acuerdo con el análisis de cromatografía de capa fina, las fracciones obtenidas con un contenido químico similar se reunieron en cinco fracciones (Cp1, Cp2, Cp3, Cp4 y Cp5). Posteriormente, se utilizó cromatografía líquida de alta resolución para analizar la composición fitoquímica de estas fracciones. Los cromatogramas se monitorearon a 240 nm, 280 nm y 330 nm, lo que permitió la detección de 21 picos. Por otro lado, para evaluar la actividad antidiabética de las fracciones, se administraron una dosis de 31 mg/kg a ratas diabéticas inducidas con STZ durante 15 días. Las fracciones Cp3, Cp4 y Cp5 disminuyeron la concentración de glucosa, lípidos y enzimas hepáticas en suero de ratas diabéticas. Además, las ratas tratadas con Cp4 y Cp5 mostraron valores más altos de ABC para el peso corporal. En las fracciones se han identificaron terpenos, alcaloides, lignanos, taninos, ácidos fenólicos, iridoídes y flavonoides. Los resultados de este trabajo sugieren que las hojas de *C. papaya* poseen metabolitos con actividad antidiabética.

Abstract

Carica papaya leaves have shown hypoglycemic effect in rodent models of diabetes. This work aimed to identify the phytochemical content of the fractions from a chloroform extract of *C. papaya* and assess the antidiabetic activity of these fractions in diabetes-induced rats. The *C. papaya* extract prepared in a Soxhlet extractor and fractionated by column chromatography using a combination of hexane and ethyl acetate (v/v; 5% gradient). After thin layer chromatography analysis, the fractions obtained with similar chemical content were gathered into five fractions (Cp1, Cp2, Cp3, Cp4, and Cp5). Subsequently, high-performance liquid chromatography was employed to analyze the phytochemical composition of these fractions. Chromatograms were monitored at 240 nm, 280 nm, and 330 nm, allowing the detection of twenty-one peaks. On the other hand, to evaluate the antidiabetic activity of the fractions, a dose of 31 mg/kg was given to diabetic rats for 15 days. Fractions Cp3, Cp4, and Cp5 decreased the concentration of glucose, lipids, and serum liver enzymes in diabetic rats. In addition, rats treated with Cp4 and Cp5 showed higher AUC values for body weight. Terpenes, alkaloids, lignans, tannins, phenolic acids, iridoids, and flavonoids were identified in the fractions. The result of this investigation suggests that *C. papaya* leaves possess metabolites with antidiabetic activity.

1. Introducción

1.1. Diabetes

La diabetes afecta a 536.6 millones de personas en el mundo. De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, esta enfermedad representa una de las primeras diez causas de muerte en adultos a nivel mundial (Sun *et al.*, 2022). Por otra parte, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía reporta que en México la diabetes constituye la segunda causa de decesos en la población adulta (INEGI., 2023). La diabetes es una afección crónica y compleja caracterizada por niveles elevados de glucosa en sangre, identificados clínicamente como hiperglucemia (ElSayed *et al.*, 2022; Harreiter y Roden, 2023). La hiperglucemia provoca síntomas como poliuria, polidipsia, fatiga, pérdida de peso, alteraciones visuales y susceptibilidad a infecciones a cetoacidosis. A largo plazo, la hiperglucemia se asocia con daño de varios tejidos y órganos (ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos) (Harreiter y Roden, 2023). La diabetes, según la Asociación Americana de Diabetes (ADA), se clasifica en: diabetes tipo 1, caracterizada por una alteración en la secreción de insulina debido a la destrucción de las células β pancreáticas mediada por el sistema inmunitario, lo que provoca una deficiencia absoluta de insulina; diabetes tipo 2, que implica una acción reducida de la insulina (resistencia a la insulina) con disfunción progresiva de las células β , a menudo acompañada de una deficiencia de insulina; otros tipos específicos incluyen la diabetes resultante de condiciones como enfermedades pancreáticas, trastornos endocrinos, medicamentos, defectos genéticos, infecciones y síndromes autoinmunes; y finalmente, la diabetes gestacional

es un trastorno de tolerancia a la glucosa que se manifiesta durante el embarazo (EISayed *et al.*, 2023a).

1.2. Enfoques terapéuticos para la diabetes

El tratamiento de la diabetes se centra en mantener un control de los niveles de glucosa. En este contexto, la terapia con insulina es fundamental en la diabetes tipo 1, debido a la falta de función de las células β (EISayed *et al.*, 2023b). Por otro lado, los individuos con diabetes tipo 2 requieren medicamentos hipoglucemiantes como biguanidas (metformina), inhibidores de la α -glucosidasa (acarbosea, miglitol y voglibosa), agonistas del receptor del GLP-1 (emaglutida, albiglutida, dulaglutida, exenatida, liraglutida y lixisenatida), inhibidores de DPP-4 (sitagliptina, vildagliptina, alogliptina y saxagliptina), sulfonilureas (glipizida, glyburida, glimepirida, tolbutamida, and chlorpropamida), tiazolidinedionas (pioglitazona y rosiglitazona.) e inhibidores de SGLT2 (canagliflozina, dapagliflozina y empagliflozina) (Call *et al.*, 2022; Cao *et al.*, 2023). La literatura sugiere que individuos con diabetes tipo 2 requieren terapia combinada con insulina (EISayed *et al.*, 2023b). Adicionalmente, algunos medicamentos hipoglucemiantes causan efectos secundarios como: náuseas, vómito, dolor abdominal, acidez de estómago, disminución del apetito, diarrea y flatulencias (Call *et al.*, 2022). Asimismo, el tratamiento farmacológico de la diabetes puede estar asociado con el aumento de peso, daño hepático, cáncer de vejiga, falla renal, reacciones de hipersensibilidad, pancreatitis, insuficiencia cardíaca y riesgo de infecciones urinarias (EISayed *et al.*, 2023b; Vaughan *et al.*, 2020). Sumado a esto, el tratamiento con insulina es asociado con riesgo de hipoglucemia (Vaughan *et al.*, 2020).

1.3. Plantas medicinales

A nivel global, se ha observado un aumento en el uso de remedios naturales elaborados con plantas, los cuales son utilizados en la medicina tradicional para el tratamiento y la prevención de enfermedades (Belhouala y Benarba, 2021). En México se utilizan al menos 800 plantas en el tratamiento de la diabetes y sus complicaciones (Escandón-Rivera *et al.*, 2020). Las plantas pueden disminuir los niveles de glucosa a través de distintos mecanismos: inhibición de enzimas digestivas (α -amilasa y α -glucosidasa), acción antioxidante contra especies reactivas de oxígeno, modulación de la secreción de péptido similar al glucagón -1 (GLP-1), aumento en la secreción y sensibilización de la insulina (Salehi *et al.*, 2019; Shehadeh *et al.*, 2021). Estas propiedades se deben a compuestos que se encuentran en las plantas, como flavonoides, alcaloides, ácidos fenólicos, terpenos, esteroides y taninos (Shehadeh *et al.*, 2021).

1.4. Metabolitos de las plantas

Las plantas producen una diversidad de compuestos de bajo peso molecular denominados metabolitos, los cuales ejercen efectos sobre la propia planta y en otros organismos. Dichos compuestos se clasifican en metabolitos primarios y secundarios (Erb y Kliebenstein, 2020). En este contexto, los metabolitos primarios son necesarios para la homeostasis celular y la vida de los organismos, de los cuales se encuentran: carbohidratos, aminoácidos, nucleótidos, ácidos orgánicos y ácidos grasos (Maeda, 2019). Por otro lado, los metabolitos secundarios son sintetizados a partir de ciertos precursores de metabolitos primarios y realizan funciones fisiológicas específicas (protección contra patógenos, atraer polinizadores, establecer relaciones simbióticas

y proporcionar componentes estructurales a las plantas) (Yang *et al.*, 2018). De acuerdo con sus estructuras y rutas biosintéticas, los metabolitos secundarios se identifican como: polifenoles (fenoles), terpenos y alcaloides (Chiocchio *et al.*, 2021).

Los fenoles son fitoquímicos que eliminan el peróxido de hidrógeno en las plantas, y presentan grupos hidroxilo acoplados a estructuras aromáticas en su composición. Estos compuestos se identifican: ácidos fenólicos, chalconas, cumarinas, curcumina, estilbenos, feniletanoides, flavonoides, flavonoles, flavanoles, flavanonas, flavonas, isoflavonas, lignanos, quinonas, taninos, xantonas y curcuminoides (Alara *et al.*, 2021; Sun y Shahrajabian, 2023). Adicionalmente, los terpenos son compuestos formados por hidrocarburos simples que se originan a través de la síntesis del ácido mevalónico y se categorizan según la cantidad de unidades de isopreno (C₅) presentes en su estructura. Siguiendo esta regla se dividen en hemiterpenos (C₅H₈), monoterpenos (C₅H₈)₂, sesquiterpenos (C₅H₈)₃, diterpenos (C₅H₈)₄, sesterterpenos (C₅H₈)₅, triterpenos (C₅H₈)₆ (Chiocchio *et al.*, 2021; Masyita *et al.*, 2022). Además, los alcaloides son moléculas que contienen en su estructura uno o más átomos de nitrógeno dentro de anillos heterocíclicos. Debido a su diversidad estructural, los alcaloides se clasifican en derivados de aminoácidos y pseudoalcaloides (Chiocchio *et al.*, 2021; Dey *et al.*, 2020).

1.5. Fitoquímica y compuestos bioactivos

Alrededor del 35% de medicamentos tienen un origen directo o indirecto a partir de productos naturales (Calixto, 2019). Diversos metabolitos secundarios son utilizados en la industria farmacéutica y son llamados compuestos bioactivos ya que causan efectos farmacológicos y toxicológicos en humanos y animales, también se emplean

en elaboración de cosméticos, suplementos nutricionales y suplementos dietéticos (Guerriero *et al.*, 2018). Los compuestos aislados de plantas medicinales tienen estructuras únicas, mayor cantidad de átomos de oxígeno, centros quirales, complejidad estérica, rigidez molecular, aceptores y donantes de enlaces de hidrógeno (Najmi *et al.*, 2022). La obtención de estos compuestos es mediante aislamiento biodirigido, que consiste en una serie de fraccionamientos del extracto de la planta, guiados por evaluaciones de la actividad farmacológica, que cuando son positivas dirigen el estudio hasta aislar el compuesto de interés (Najmi *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2020).

1.6. Métodos de extracción y fraccionamiento

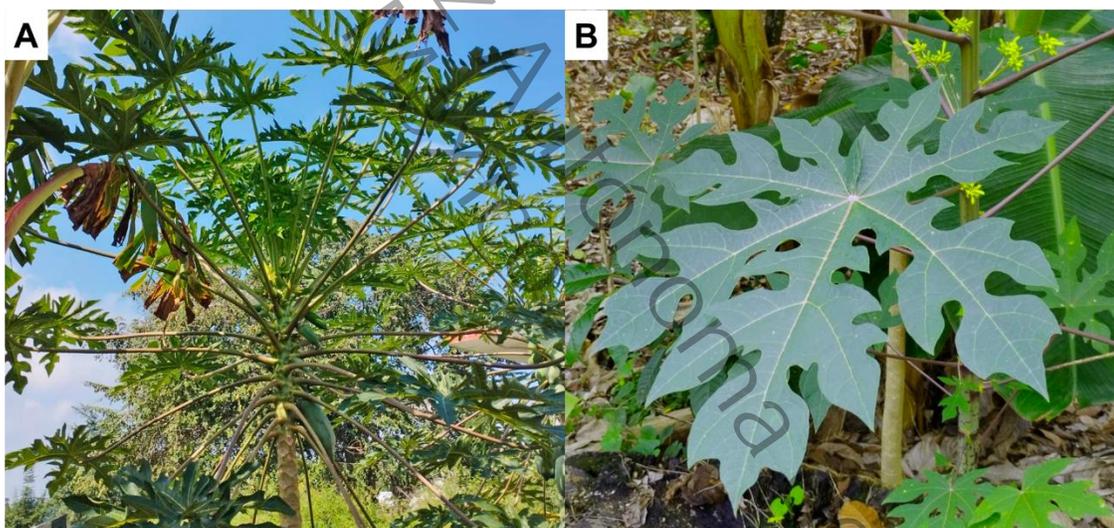
Los extractos de plantas se elaboran mediante la extracción sólido-líquido, para ello se utilizan diversos métodos de extracción (infusión, decocción, extracción por Soxhlet y maceración) (Chuo *et al.*, 2022). Por su parte, las fracciones se obtienen por un proceso de separación de los extractos de plantas, y estas contienen un número determinado de compuestos (Abubakar y Haque, 2020). En la extracción se emplean solventes considerando su capacidad de disolución dada por la polaridad, esta representa las interacciones posibles entre un solvente y cualquier soluto potencial (Florindo *et al.*, 2018). En general, los solventes polares (agua, metanol y etanol) extraen compuestos de polaridad alta, mientras que los solventes no polares (hexano y éter de petróleo) extraen compuestos de polaridad baja (Abubakar y Haque, 2020). Por lo tanto, es posible predecir la naturaleza de los metabolitos contenidos en los extractos a partir del tipo de solvente empleado.

1.7. *Carica papaya*

Carica papaya es una planta herbácea, perenne, poco ramificada, de tallo liso y hojas largas que tienen 5 a 6 lóbulos, esta puede crecer hasta 10 m de altura y vivir de 5 a 10 años (Figura 1). Esta especie vegetal es originaria de las tierras bajas de América Central entre el Sur de México y Nicaragua (Jain y Priyadarshan, 2009; Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). La fruta, la corteza, las raíces, las semillas, la cáscara, la pulpa y las hojas de *C. papaya* tienen muchos usos terapéuticos conocidos en el mundo (Singh *et al.*, 2020).

Figura 1

Planta de C. papaya



Nota: fotografía de la planta *C. papaya* (A) y hoja (B) (Elaboración propia).

Particularmente, las hojas de *Carica papaya* destacan por su relevancia terapéutica, ya que exhiben actividad antidiabética, antiinflamatoria, antiviral, anticancerígena, antibacteriana, analgésica, antiespasmódica y antioxidante (Sharma *et al.*, 2019). Además, el análisis de las hojas mediante GC-MS reveló una diversidad de

compuestos químicos, entre los cuales se encuentran α -tocoferol, escualeno, fitol y una mezcla de fitoesteroles como campesterol, estigmasterol y β -sitosterol. También se identificaron ácido hexadecanoico, γ -tocoferol, oleano-12-eno, 13,17-cicloursan-3-ona y cicloartenol (Khor *et al.*, 2021).

1.8. Extractos de la hoja de *C. papaya* con actividad antidiabética

Las publicaciones disponibles reportan que la administración del extracto acuoso de la hoja de *C. papaya* a ratas diabéticas disminuye los niveles séricos de glucosa, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, aminotransferasas, mayor número de islotes de Langerhans y aumento de los niveles de óxido nítrico sérico. Además, en ratas no diabéticas aumentó los niveles de insulina tras la administración de este extracto (Juárez-Rojop *et al.*, 2012). Así mismo, Miranda-Osorio *et al.* (2016) demostraron que el extracto clorofórmico de *C. papaya* (31 y 62 mg/kg) en ratas diabéticas disminuyeron los niveles de glucosa. Adicionalmente, las células tratadas con el extracto clorofórmico produjeron mayor cantidad de insulina, y un efecto protector contra los efectos de la STZ (Miranda-Osorio *et al.*, 2016). Por otro lado, Khor *et al.* (2021) indican que la hoja de *C. papaya* contiene metabolitos que actúan como agentes reductores, donantes de hidrógeno y quelantes de metales. Además, los extractos hidrofílicos de *C. papaya* (etanol y jugo liofilizado) mostraron capacidad de reducción, y el extracto elaborado con el jugo liofilizado de la hoja *C. papaya* protegió a las células del estrés oxidativo. También, los extractos elaborados con fluido crítico (scCO₂ y scCO₂ +CH₃OH) presentaron actividad antioxidante (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Khor *et al.*, 2021). En otro estudio, Roy *et al.* (2022) mostraron que el extracto etanólico de *C. papaya* mejora la sensibilidad a la insulina en el músculo

esquelético en ratas diabéticas, y aumenta los niveles de hexoquinasa y piruvato quinasa (Roy *et al.*, 2022).

1.9. Técnicas cromatográficas

La cromatografía es una técnica empleada para separar, identificar y aislar los compuestos de un extracto o mezcla determinada (Abubakar y Haque, 2020). La cromatografía se basa en la aplicación de una mezcla sobre un material inmóvil (fase estacionaria), y las moléculas se desplazan con la asistencia de un líquido o un gas (fase móvil), resultando en su separación (Coskun, 2016). Esta técnica se divide en fase normal y fase inversa, cuya elección es determinada según la naturaleza de la muestra. En la fase inversa, la fase móvil es polar y la fase estacionaria es no polar, y en la fase normal, la fase móvil es no polar y la fase estacionaria es polar (Boldura *et al.*, 2020). La separación de los componentes es determinada por las propiedades de la muestra y el disolvente (tamaño, forma polaridad, pH), así como por el tipo de fase estacionaria (Abubakar y Haque, 2020; Sahu *et al.*, 2018). Por lo anterior, algunas moléculas de la mezcla tienden a quedarse en la fase estacionaria durante un período prolongado, y otras de ellas se desplazan con mayor rapidez hacia la fase móvil (Coskun, 2016). La mayoría de las moléculas orgánicas tienen una naturaleza aromática o insaturada, y muestran propiedades de absorción en la región UV-Vis, se requiere un detector para identificarlas y cuantificarlas a través de los picos de máxima absorción (espectrofotómetro UV-Vis y el detector de matriz de diodos; DAD) (Boldura *et al.*, 2020).

En la investigación de compuestos bioactivos, se emplean diversas técnicas de separación, como la cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés) y la

cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). La TLC se presenta como una opción sencilla y económica; esta técnica utiliza una fase estacionaria en una placa compuesta por una capa porosa adsorbente (gel de sílice) unida a un soporte inerte (Hölzl y Dörmann, 2021). Para el proceso de separación, la placa se coloca en una cámara llena con el eluyente (fase móvil), que transporta los analitos por acción capilar (Mukherjee, 2019). Por otro lado, en la técnica de HPLC, la muestra disuelta en un solvente (fase móvil) se bombea a alta presión a través de una columna con un material de relleno cromatográfico inmovilizado (fase estacionaria) (Ahmad Dar *et al.*, 2020). Cuando la fase móvil sale de la columna, pasa por un detector de absorbancia, enviando una señal a un programa de software de control para análisis posteriores (Petrova y Sauer, 2017).

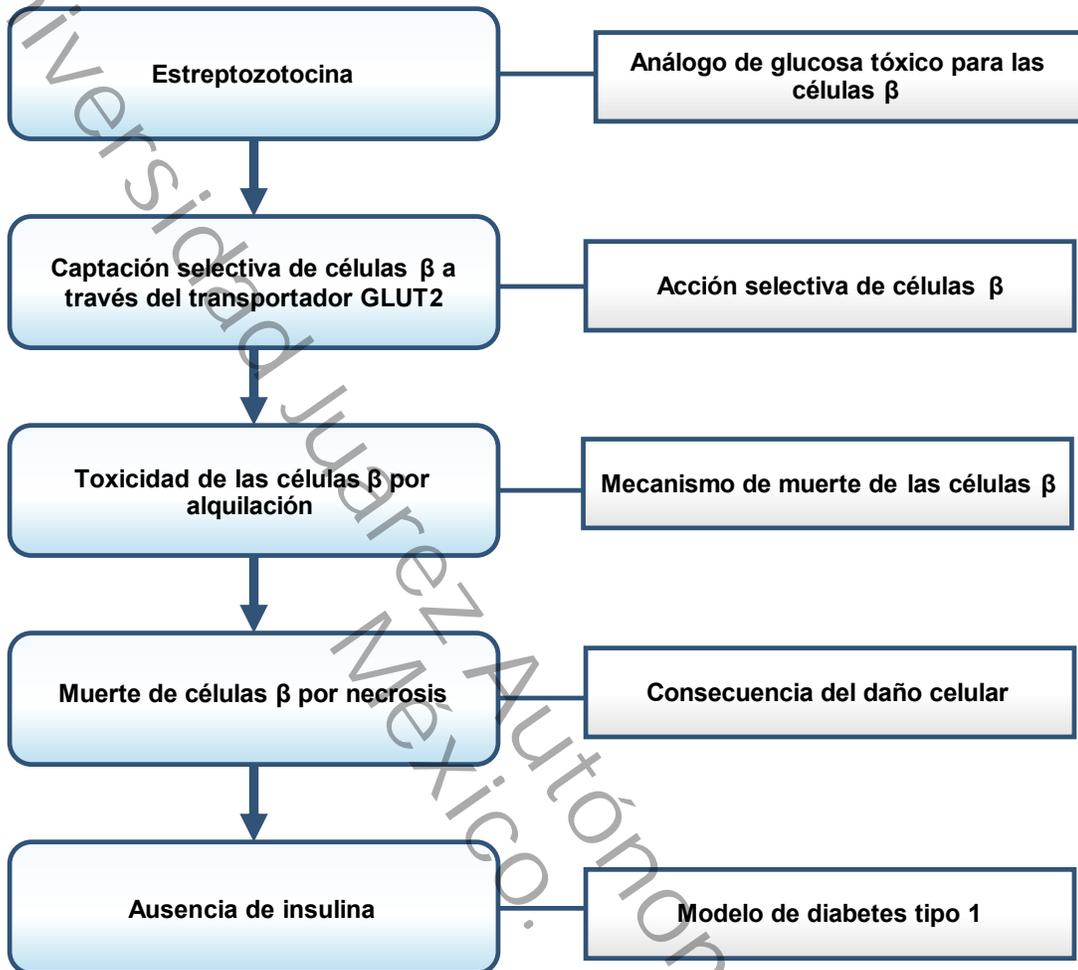
1.10. Modelos experimentales de diabetes en ratas

La diabetes experimental en ratas se desarrolla mediante la inducción por agentes químicos o manipulación genética. Particularmente, los modelos de estreptozotocina (STZ) y aloxano son los más utilizados para la inducción química de diabetes en animales (Hasan *et al.*, 2018; Pandey y Dvorakova, 2020). La STZ es un compuesto citotóxico análogo de la glucosa que se acumula y transporta selectivamente en las células β pancreáticas a través de GLUT-2. Los efectos tóxicos de la STZ en las células del páncreas se deben a la interacción de la metil-nitrosourea que transfiere el grupo metilo a la molécula de ADN (alquilación), iniciando una serie de eventos que conducen a la fragmentación del ADN (Figura 2) (Hasan *et al.*, 2018; Kottaisamy *et al.*, 2021). En consecuencia, los animales experimentan deficiencia de insulina, hiperglucemia, polidipsia y poliuria, todas ellas características de la diabetes tipo 1. La

administración de una sola dosis por vía parenteral de STZ (40 a 70 mg/kg) es importante para inducir el estado de diabetes. Por otro lado, el aloxano es un compuesto hidrofílico con una estructura similar a la glucosa y, al igual que la STZ, ingresa a las células β a través de transportadores GLUT2 (Pandey y Dvorakova, 2020). La molécula de aloxano posee un grupo 5-carbonilo central que reacciona con el grupo tiol de la glucoquinasa (hexoquinasa IV) inhibiendo la enzima, además, genera especies reactivas de oxígeno en presencia de glutatión intracelular, lo que conduce a la destrucción de las células β pancreáticas (Hasan *et al.*, 2018; Kottaisamy *et al.*, 2021; Radenković *et al.*, 2016). La cantidad de aloxano necesaria para provocar diabetes en roedores varía de 40 a 200 mg/kg, dependiendo de la cepa y vía de administración (intraperitoneal, subcutánea o intravenosa) (Kottaisamy *et al.*, 2021).

Figura 2

Toxicidad de la estreptozotocina en las células β del páncreas



Nota. Adaptado de Hasan *et al.*, (2018).

2. Planteamiento de problema

La diabetes es un trastorno metabólico grave con una alta tasa de mortalidad (Guo *et al.*, 2023). El tratamiento farmacológico presenta limitaciones en el uso de medicamentos hipoglucemiantes orales e insulina, riesgos de efectos secundarios, la disponibilidad y los costos (Vaughan *et al.*, 2020). Esto puede afectar la capacidad para controlar la diabetes, lo que contribuye a una disminución de la calidad de vida en las personas que padecen esta enfermedad (Janssen *et al.*, 2020). Por otra parte, una alternativa farmacológica es el empleo de plantas medicinales con menos efectos secundarios y mayor accesibilidad (Zhang *et al.*, 2020). En este contexto, se estudió la planta *Carica papaya* en modelos de diabetes en roedores, demostrando que el extracto acuoso de sus hojas tiene actividad hipoglucemiante (Juárez-Rojop *et al.*, 2012; Maniyar y Bhixavatimath, 2012). Asimismo, en otro estudio se reveló que el extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* mostraba actividad hipoglucemiante y antidiabética en ratas, con un alto contenido de esteroides y quinonas (Juárez-Rojop *et al.*, 2014) (Miranda-Osorio *et al.*, 2016).

Hasta la fecha, existen pocas evidencias de la identificación de compuestos responsables de la actividad antidiabética del extracto clorofórmico de las hojas de *C. papaya*. Además, de estudios biodirigidos de las hojas de *C. papaya* para la obtención de fracciones activas con actividad biológica. Considerando lo anterior, se plantea la siguiente pregunta: ¿las fracciones obtenidas del extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* poseen metabolitos con actividad antidiabética?

3. Justificación

Las plantas de la medicina tradicional son esenciales en la atención médica, principalmente en países en desarrollo. En el contexto de la diabetes, algunas personas optan por utilizar productos elaborados con plantas medicinales como una alternativa al tratamiento farmacológico debido a su accesibilidad y costo razonable. Sin embargo, los productos herbolarios tienen efectos adversos, por lo tanto, es necesario evaluar su seguridad y eficacia. Además, la investigación en plantas medicinales revela una diversidad de compuestos químicos que pueden regular los niveles glucosa en sangre. Asimismo, en estudios biodirigidos se realiza la detección de los metabolitos de las plantas y su evaluación en modelos experimentales, ya sea a través de la obtención de fracciones o compuestos aislados de extractos herbolarios. En este sentido, diversos estudios muestran que la planta *C. papaya* posee actividades biológicas que se relacionan con la composición fitoquímica de extractos elaborados con distintos solventes (agua, etanol, metanol y cloroformo). Particularmente, el extracto clorofórmico de hojas *C. papaya* muestra actividad antidiabética en modelos de diabetes en roedores. Estas evidencias sugieren que las hojas de *C. papaya* contienen metabolitos que pueden tener efectos beneficiosos en el control de la diabetes. De acuerdo con lo mencionado anteriormente, la finalidad del presente trabajo fue determinar el contenido fitoquímico de fracciones de un extracto clorofórmico de las hojas de *C. papaya* mediante la técnica de HPLC y evaluar su actividad antidiabética en un modelo experimental de diabetes.

4. Hipótesis

Las fracciones del extracto clorofórmico de la hoja de *C. papaya* tienen actividad antidiabética en un modelo experimental de diabetes en ratas.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Identificar el contenido fitoquímico de fracciones del extracto clorofórmico de la hoja de *C. papaya* y evaluar su actividad antidiabética en el modelo de diabetes inducida por estreptozotocina en ratas.

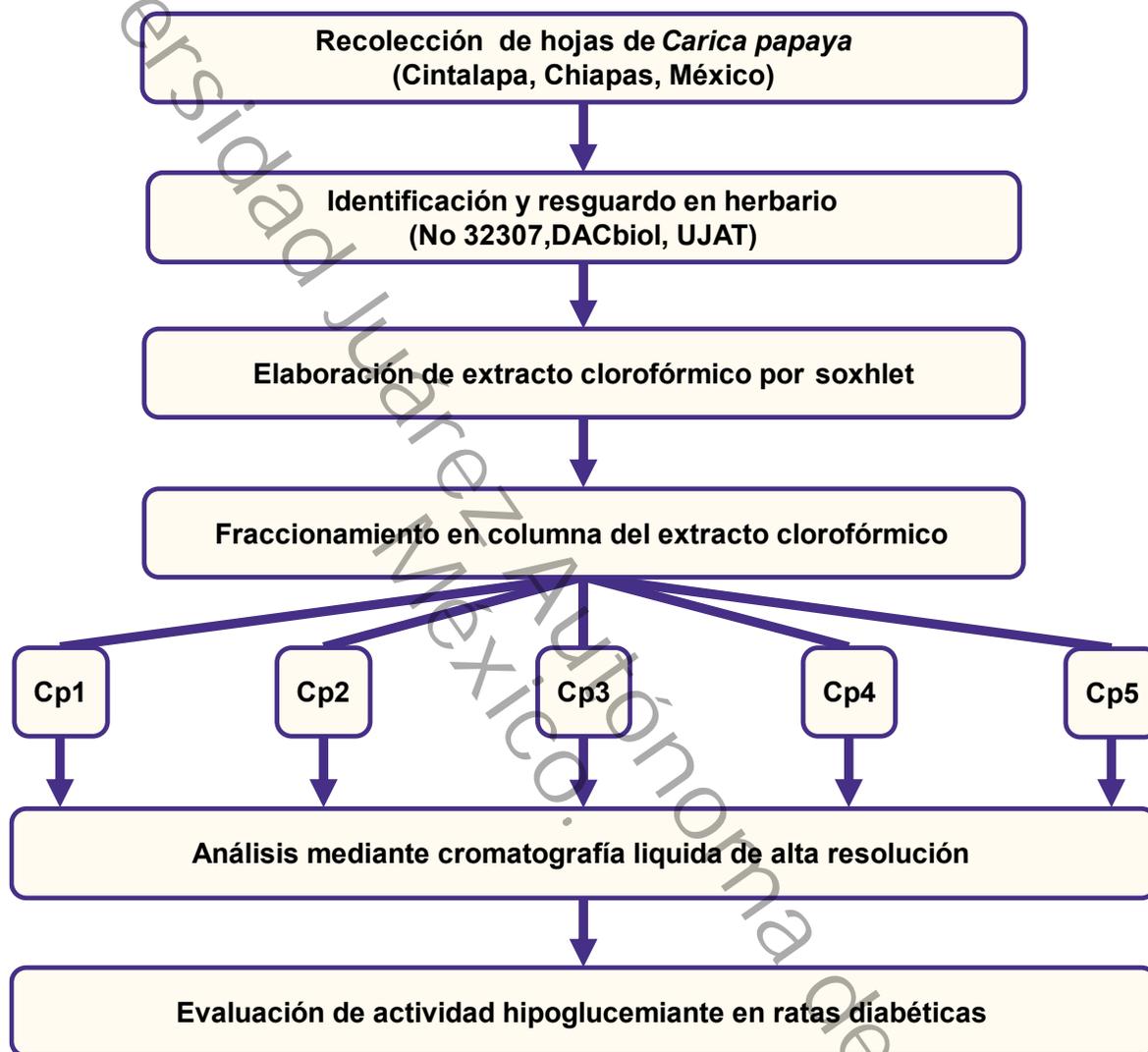
5.2 Objetivos específicos

1. Obtener fracciones del extracto clorofórmico de la hoja de *C. papaya* mediante técnicas cromatográficas.
2. Separar e identificar el contenido fitoquímico de cada fracción por medio de cromatografía líquida de alta resolución.
3. Evaluar el efecto hipoglucemiante de las fracciones del extracto clorofórmico de *C. papaya* en ratas diabéticas.
4. Determinar los parámetros bioquímicos en suero de las ratas diabéticas tratadas con las fracciones del extracto clorofórmico de *C. papaya*.

6. Metodología

Figura 3

Esquema general de la metodología



6.1. Recolección de material vegetal

Las hojas de *C. papaya* fueron recolectadas en Cintalapa, Chiapas, en septiembre de 2021, asegurando que se obtuviera la cantidad necesaria sin exceder los límites éticos de recolección y cumpliendo con las regulaciones de recolección de plantas (Rudalevige y Whitman, 2019). El material vegetal fue lavado, secado (temperatura

ambiente), pulverizado y almacenado hasta su uso (4°C). Un v ucher del espécimen (*Carica papaya* L., 32307) se conserva en el herbario de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

6.2. Preparación del extracto clorofórmico de hoja de *C. papaya*

200 g de muestra fueron colocados en un sistema Soxhlet y sometidos a reflujo con 500 mL de cloroformo durante 24 horas. Posteriormente, el extracto obtenido fue filtrado y concentrado en un evaporador rotatorio Heidolph G3 (Schwabach, Alemania) a 45°C con una presión de 2 milibares. Finalmente, el extracto fue sometido a un proceso de liofilización utilizando un equipo Heto Drywinner DW3. El extracto clorofórmico de hojas *C. papaya* (CpC) se almacenó bajo resguardo de la luz y el calor para su posterior uso. El rendimiento del extracto fue calculado de acuerdo con la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{\text{extracto}}{\text{muestra}} \times 100$$

De 600 gr de material vegetal se obtuvieron 83.5 gr de extracto. Por lo tanto, el rendimiento del extracto es: 13.91%.

6.3. Fraccionamiento en columna y análisis por cromatografía en capa fina

20 g del extracto de cloroformo de *C. papaya* (CpC) fueron adsorbidos en 200 g de gel de sílice 60 (0,063-0,200 mm, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) de fase normal y colocados en una columna cromatográfica (50 mm x 600 mm). La separación en la columna se llevó a cabo mediante la elución sucesiva con mezclas de *n*-hexano y acetato de etilo, con un incremento gradual de la polaridad del 5% v/v, seguido de un lavado con metanol. Este proceso generó un total de cincuenta y seis fracciones, las

cuales fueron concentradas utilizando un rotavapor y posteriormente analizadas mediante cromatografía en capa fina (gel de sílice 60 F254, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) con una fase móvil compuesta por una mezcla de diclorometano y acetona. Con base en sus perfiles cromatográficos, las fracciones fueron agrupadas en cinco reuniones de fracciones designadas como Cp1 (7,34 g), Cp2 (2,01 g), Cp3 (1,73 g), Cp4 (1,02 g) y Cp5 (3,38 g).

6.4. Análisis HPLC-DAD

El análisis del CpC y sus fracciones (Cp1-Cp5) fue realizado mediante el sistema HPLC Waters 2695 Separation Module (Waters, Milford, MA), acoplado a un detector PDA (detección UV de 200-600 nm), una columna Discovery C18 (0,46 cm × 25 cm, 5 µm; Supelco, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y el software Empower Pro (Waters, Milford, MA). La fase móvil fue compuesta por H₂O (grado HPLC) + ácido trifluoroacético (0,5%) (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). El gradiente de elución se muestra en la Tabla 1. El volumen de inyección de muestra de 0,01 ml y el caudal de 0,9 ml/min. Los espectros de absorbancia de las muestras se monitorearon a 240 nm, 280 nm y 330 nm según la resolución de los picos. Los compuestos fueron detectados mediante el tiempo de retención (t_R), y Lambda máxima ($\lambda_{m\acute{a}x}$) de las bandas UV-Vis de los picos obtenidos con estándares de genipósido (t_R = 8.5 min, $\lambda_{m\acute{a}x}$ = 204 y 238 nm), cafeína (t_R = 9.16 min, $\lambda_{m\acute{a}x}$ = 223.9, 272.2 nm), naringenina (t_R = 16. 0 min, $\lambda_{m\acute{a}x}$ = 213.4 y 289.9 nm), catequina (t_R = 8.64 min, $\lambda_{m\acute{a}x}$ = 226 y 279 nm), apigenina (t_R = 16.76 min, $\lambda_{m\acute{a}x}$ =267.5 y 338.6 nm) y acido gallico (t_R = 7.38 min, $\lambda_{m\acute{a}x}$ =218 and 271 nm). Todos los estándares fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.).

Tabla 1*Gradiente de elución para HPLC*

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0-1	100	0
2-3	95	5
4-20	70	30
21-23	50	50
24-25	0	80
26-27	0	100
28-30	100	0

Nota: solvente A (agua) y solvente B (acetonitrilo)

6.5. Animales

El presente estudio utilizó ratas Wistar macho adultas (10 y 11 semanas) con un peso de 250 a 300 g. Los animales fueron obtenidos de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y se alojaron en condiciones estándar de laboratorio: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Las ratas tuvieron acceso a agua y comida estándar para roedores *ad libitum*, excepto durante los períodos designados de ayuno. Los procedimientos experimentales en animales se apegaron a la NOM-062-ZOO-1999 y a la guía ARRIVE 2.0 para la investigación en animales (ARRIVE Animal Research: Reporting *In Vivo* Experiments; Tabla 2). Este estudio fue aprobado por la coordinación de investigación de la División Académica de Ciencias de la Salud (UJAT, JI-PG-176).

Tabla 2
Guía ARRIVE 2.0

Las 10 Esenciales				
Estos <i>items</i> recogen la información básica y mínima a incluir en el manuscrito. Sin esta información, los lectores y revisores no pueden evaluar la fiabilidad de los hallazgos.				
Apartado	Recomendación	Sección /o razón para no informar		
Diseño del estudio	1	Detalles resumidos del diseño de cada experimento, sobre: a. Los grupos que se están comparando, incluyendo los grupos control. Si no se utilizan grupos control, se debe justificar. b. La unidad experimental (un animal, una camada, una jaula de animales).	Sección de diseño experimental. Sección de diseño experimental.	
	Tamaño de la muestra	2	a. Especificar el número exacto de unidades experimentales de cada grupo y el número total en cada experimento. E indicar también el número total de animales utilizados. b. Explicar cómo se ha decidido el tamaño de la muestra, proporcionando detalles sobre el cálculo del tamaño de la muestra a priori, en caso de que se haya realizado.	Sección de diseño experimental. Se decidió un tamaño de muestra de 6 animales por grupo para minimizar el número total de sujetos y obtener resultados significativos.
Criterios de inclusión y de exclusión		3	a. Describir todos los criterios utilizados en la inclusión y exclusión de animales (o unidades experimentales) durante el experimento, y datos durante el análisis. Especificar si estos criterios se establecieron a priori, y si no fue así, decirlo explícitamente. b. Informar sobre cualquier animal, unidad experimental o datos no incluidos en el análisis especificando la razón. Si no ha habido exclusiones, decirlo explícitamente. c. Decir el valor exacto de <i>n</i> en cada grupo experimental, en todos los análisis.	Sección de inducción de diabetes. No hubo exclusiones en el estudio. Sección de diseño experimental.
	Aleatorización	4	a. Informar sobre si se ha utilizado aleatorización para distribuir las unidades experimentales en los diferentes grupos de tratamiento y de control. En caso afirmativo, informar sobre el método utilizado para determinar la secuencia de aleatorización. b. Describir la estrategia utilizada para minimizar las variables de confusión, como el orden de los tratamientos y mediciones o localización de los animales/jaulas. Si no se han controlado las variables de confusión, se debe decir de forma explícita.	El diseño del estudio no incluye la aleatorización de los animales. Estas variables no se controlaron.
		Cegamiento	5	Describir quién tenía conocimiento de la distribución de los grupos en las diferentes fases del experimento (durante la distribución, la realización del experimento, la evaluación de los resultados y el análisis de los datos).
Medida de los resultados	6	a. Definir claramente todas las medidas evaluadas (por ejemplo, muerte celular, marcadores celulares, o cambios del comportamiento). b. Especificar la medida de resultado primaria, es decir, la medida de resultado que se ha utilizado para determinar el tamaño de la muestra.	Sección de: determinación de la glucosa en ayunas y del peso corporal/ Parámetros bioquímicos. No se determinó un tamaño de muestra en este estudio.	
	Métodos estadísticos	7	a. Proporcionar detalles de los métodos estadísticos utilizados para cada análisis, incluyendo el software utilizado. b. Describir cualquier método utilizado para evaluar si los datos se ajustan a las suposiciones estadísticas, y lo que se ha hecho de no ser así.	Sección de análisis estadístico. No utilizamos ningún método adicional para evaluar si los datos se ajustan con las suposiciones estadísticas.
Animales experimentales		8	a. Proporcionar información sobre los animales utilizados, incluyendo la especie, la cepa y subcepa, el sexo, la edad o etapa del desarrollo y, si procede, el peso. b. Proporcionar toda la información relevante sobre el origen de los animales, su estado de salud/ inmunitario, su estado de modificación genética, su genotipo y cualquier procedimiento previo al que hayan sido sometidos.	Sección de animales. Sección de animales.
	Procedimientos experimentales	9	Describir detalladamente los procedimientos de cada grupo experimental, incluyendo los controles, al objeto que otros investigadores puedan replicarlos: a. Lo que se ha hecho, cómo se ha hecho y lo que se ha utilizado. b. Cuando y con qué frecuencia. c. Dónde (incluyendo la información sobre los periodos de aclimatación). d. Por qué (justificar los procedimientos).	Secciones: Inducción de la diabetes, Diseño experimental, Determinación del peso corporal y glucosa en ayunas, Parámetros bioquímicos. Secciones: Inducción de la diabetes, Diseño experimental, Determinación del peso corporal y glucosa en ayunas, Parámetros bioquímicos. Sección de animales. Sección de diseño experimental.
Resultados		10	En cada uno se los experimentos realizados, incluyendo las replicaciones independientes, informar sobre: a. Los datos estadísticos resumidos/descriptivos, con medidas de la variabilidad, en su caso (por ejemplo, media y desviación estándar, o mediana e intervalo). b. En su caso, el tamaño del efecto con un intervalo de confianza.	Sección de análisis estadístico. No aplica.

Nota: La guía ARRIVE 2.0 se compone de un conjunto de criterios que deben verificarse al redactar trabajos de investigación que incluyan la participación de animales. Modificado de Percie du Sert *et al.*, (2020).

6.6. Inducción de diabetes

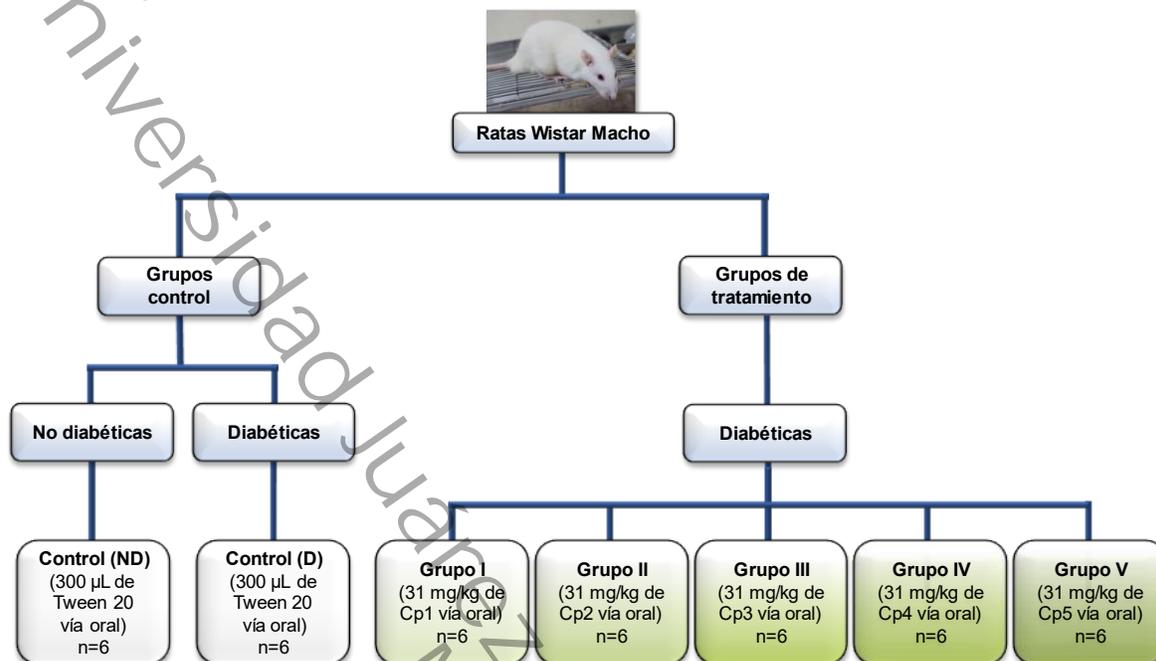
La diabetes fue inducida mediante la inyección de 60 mg/kg de STZ (Sigma, St. Louis, MO) disuelta en agua destilada por vía i.p. en ratas en ayunas (Courteix *et al.*, 1994). Los animales del grupo de control recibieron solución salina estéril al 0,9%. Después de 72 h, se midieron los niveles de glucosa en sangre en ayunas utilizando un glucómetro en la vena de la cola de las ratas (Accu-Chek® Instant, Roche, México). Las ratas con niveles de glucosa en sangre en ayunas de ≥ 250 mg/dL fueron identificadas como diabéticas. Ninguno de los animales fue excluido del estudio.

6.7. Diseño experimental

Cuarenta y dos ratas fueron distribuidas en siete grupos (Figura 4; n=6). Los grupos **ND** (ratas control no diabéticas) y **D** (ratas control diabéticas) recibieron 300 μ l de Tween-20 al 5 % (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Las ratas diabéticas restantes fueron tratadas con las distintas fracciones, a una dosis de 31 mg/kg de peso corporal, de la siguiente manera: Grupo **I** (Cp1), Grupo **II** (Cp2), Grupo **III** (Cp3), Grupo **IV** (Cp4) y Grupo **V** (Cp5). Los animales fueron tratados diariamente a la misma hora (10:00 am) mediante administración oral de las fracciones en 300 μ l de Tween-20 al 5%. La dosis se seleccionó con base en estudios previos del extracto clorofórmico de *C. papaya* (Miranda-Osorio *et al.*, 2016).

Figura 4

Diseño experimental



6.8. Determinación del peso corporal y glucosa en ayunas

El peso corporal fue determinado con una báscula electrónica (PGW 4502e, Adam Equipment Inc., Danbury CT, EE. UU.) y los niveles de glucosa en ayunas fueron medidos mediante punción en la punta de la cola utilizando un glucómetro (Accu-Chek® Instant, Roche, México). Estos parámetros se midieron en todos los animales antes del tratamiento, cada 5 días durante 15 días.

6.9. Parámetros bioquímicos

Tras un período de tratamiento de 15 días, los animales fueron sacrificados, se procedió a obtener muestras de suero que se almacenaron de inmediato hasta su posterior análisis (-80°C). Las muestras fueron analizadas en un equipo de química clínica (VITROS 4600, Ortho Clinical Diagnostics) con el fin de medir los niveles de

glucosa (Clic), colesterol (Chol), triacilgliceroles (TAG) y enzimas hepáticas (ALT, AST y ALP).

6.10. Análisis estadístico

Los resultados de glucosa en ayunas y peso corporal durante 15 días se presentan como el área bajo la curva (ABC), que se calculó utilizando el método de los trapezoides, y los demás datos se expresan como media \pm error estándar. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza, seguido de comparaciones múltiples entre tratamientos utilizando la prueba de Tukey, en el software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., USA). Se consideró un nivel de significancia de $p \leq 0,05$.

7. Resultados

7.1. Fracciones del extracto clorofórmico de la hoja de *C. papaya*

Las fracciones obtenidas del fraccionamiento en columna cromatográfica (Anexo A) fueron analizadas mediante TLC y reunidas en cinco fracciones (Cp1, Cp2, Cp3, Cp4 y Cp5). Los rendimientos de las fracciones se muestran en la Tabla 3, donde Cp1 exhibió mayor rendimiento, mientras que la fracción Cp4 presentó menor rendimiento.

Tabla 3

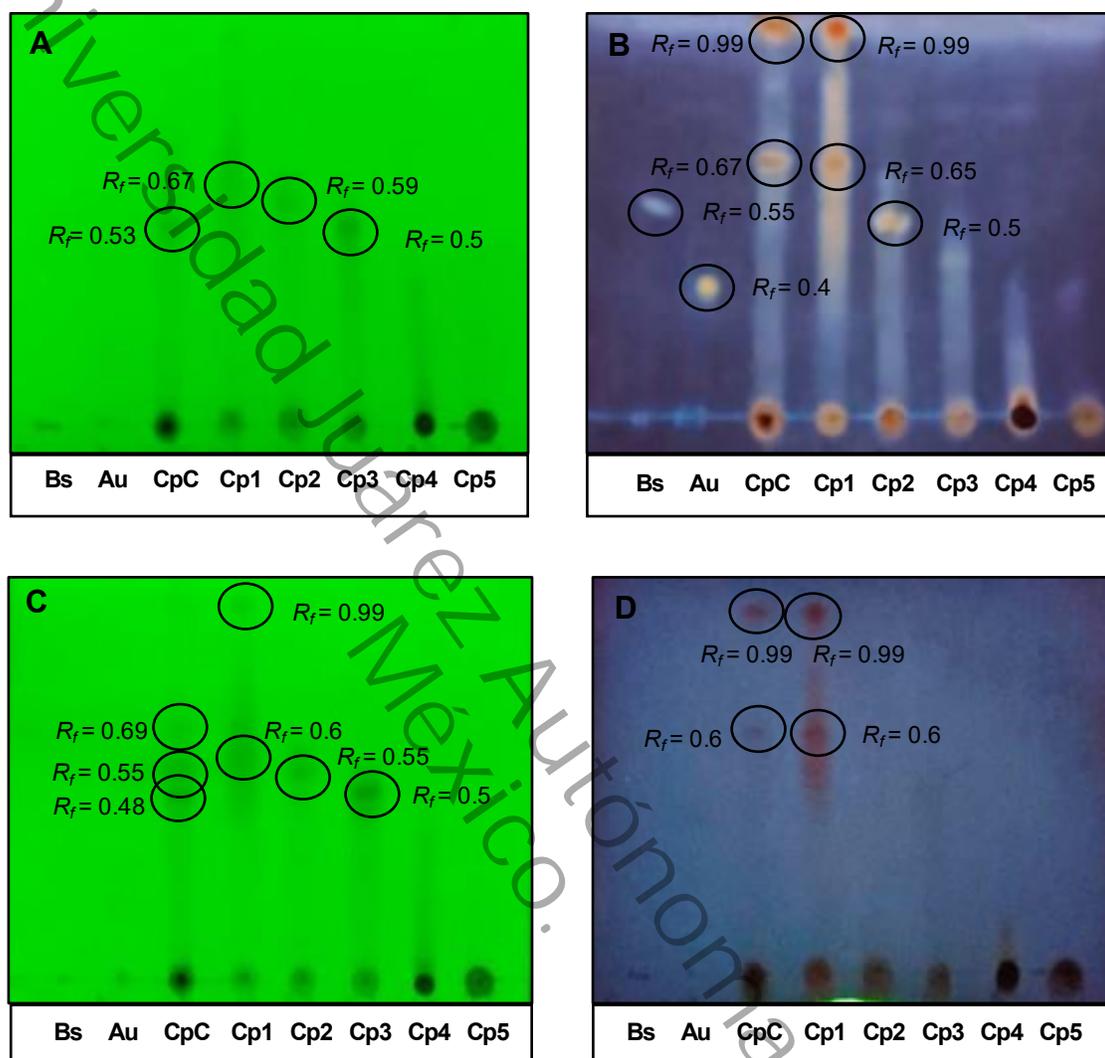
Fracciones obtenidas de CpC.

Fracciones obtenidas	Fracciones reunidas	Peso (g)	Rendimiento (%)
1-23	Cp1	7.43	37.15
24-27	Cp2	2.01	10.5
28-41	Cp3	1.73	8.65
42-55	Cp4	1.02	5.1
56	Cp5	3.38	16.9

Los cromatogramas del extracto y las cinco fracciones se presentan en la figura 5, los valores R_f de los compuestos muestran las diferencias en la composición química de cada muestra. Los compuestos de las fracciones Cp4 y Cp5 no se separaron en la placa de TLC de fase normal utilizando el sistema diclorometano:acetona (6:4).

Figura 5

Placas cromatográficas del extracto clorofórmico y fracciones.



Nota: Placas TLC fase normal eluidas con el sistema diclorometano:acetona (6:4) y observadas bajo lámpara UV de 254-nm: sin revelador (A), con revelador sulfato cérico (B), con revelador NP-PEG (C) y reactivo de Komarovsky (4-hidroxibenzaldehido) (D). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC), estándar de ácido ursólico (Au), estándar de β -sitosterol (Bs), factor de retención (R_f) y fracciones (Cp1-Cp5).

7.2. Análisis de la composición fitoquímica de CpC y fracciones

El análisis mediante HPLC-DAD de CpC y sus fracciones permitió la separación e identificación de 21 picos, los cuales se enumeraron de acuerdo con sus tiempos de retención (t_R) (Anexo B). La Tabla 4 presenta los picos detectados, sus t_R y las bandas de absorción UV-Vis (Anexo C), así como las comparaciones con los estándares de referencia (Anexo D).

El análisis cromatográfico reveló la presencia de terpenos en CpC, Cp1, Cp2 y Cp5 (picos **1**, **2**, **3**, **15** y **16**) con una sola λ_{max} entre 200 y 212 nm (Jiang *et al.*, 2016). Además, se identificaron dos derivados de genipósido (picos **17** y **20**) en Cp1 y Cp5 (Liu *et al.*, 2011). Además, dos compuestos (picos **4** y **7**) en Cp4 corresponden al ácido vanílico ($\lambda_{max} = 256$ nm y 290 nm) (Rasheeda *et al.*, 2018). Además, se identificó un compuesto (pico **5**) en Cp3 como un derivado de la cafeína (Muhammed *et al.*, 2021).

Durante el análisis se detectaron ocho picos correspondientes a compuestos de tipo flavonoides. Entre estos, dos derivados de naringenina (picos **6** y **11**) presentes en Cp2 y Cp4 exhibieron dos λ_{max} entre 212-215 nm y 287-289 (Latos-Brozio *et al.*, 2021). Además, cinco compuestos (picos **8**, **9**, **10**, **12** y **18**) fueron reconocidos como derivados de catequinas en CpC, Cp3 y Cp4 (Wandee *et al.*, 2022). Además, se identificó un derivado de apigenina (pico **14**) en Cp2 (Costa Marques *et al.*, 2013). Se detectó un compuesto reconocido como un derivado del ácido gálico en Cp4 (pico **13**; $\lambda_{max} = 272$ nm) (de Mesquita *et al.*, 2015). Finalmente, dos compuestos (picos **19** y **21**) en Cp3, Cp4 y Cp5 fueron similares a los lignanos ($\lambda_{max} = 227,6$ y 283,5 nm) (Moazzami *et al.*, 2006).

Tabla 4

Perfil fitoquímico del extracto clorofórmico y fracciones.

Pico	Compuesto	t_R (min)	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	Extracto / fracción	Referencia
1	Terpeno	3.98	212	CpC	Jiang et al., 2016
2	Terpeno	6.9	212	CpC, Cp1	Jiang et al., 2016
3	Terpeno	8.30	212	CpC,Cp2, Cp5	Jiang et al., 2016
4	Derivado de ácido vanílico	8.88	262.7, 293.5	Cp4	Rasheeda et al., 2018
5	Alcaloide derivado de cafeína	9.16	227, 279	Cp3	Muhammed et al., 2021, Std.
6	Glicósido derivado de naringenina	9.33	215, 289.9	Cp4	Latos-Brozio et al., 2021, Std
7	Derivado de ácido vanílico	9.56	246.2, 295.9	Cp4	Rasheeda et al., 2018
8	Derivado de catequina	9.93	217.0, 280.5	Cp4	Wandee et al., 2022, Std
9	Derivado de catequina	10.43	229.8, 273.4	CpC	Wandee et al., 2022, Std
10	Derivado de catequina	11.25	212.0, 284	Cp4	Wandee et al., 2022, Std
11	Glicósido derivado de naringenina	11.3	212.2, 287.6	Cp2	Latos-Brozio et al., 2021, Std
12	Derivado de catequina	12.56	278.1	Cp3	Wandee et al., 2022, Std
13	Derivado de ácido gálico	12.63	272	Cp4	de Mesquita et al., 2015, Std
14	Derivado de apigenina	14.56	268.6, 339.8	Cp2	Costa Marques et al., 2013, Std
15	Terpeno	25.2	204	CpC, Cp1, Cp5	Jiang et al., 2016
16	Terpeno	27.71	200.5	CpC, Cp1, Cp5	Jiang et al., 2016
17	Derivado de genipósido	28.46	197.0, 236.8	Cp5	Liu et al., 2011, Std
18	Derivado de catequina	28.66	220, 280	Cp3	Wandee et al., 2022, Std
19	Lignano	29.25	200.5, 225.1, 274.6	Cp4	Moazzami et al., 2006
20	Derivado de genipósido	29.26	198.2, 234.5	Cp1, Cp5	Liu et al., 2011, Std
21	Lignano	29.28	199.3, 241.5, 282.8	Cp3, Cp5	Moazzami et al., 2006

Nota: Extracto clorofórmico de la hoja de *C. papaya* (CpC), fracciones del extracto de clorofórmico (Cp1-Cp5) y estándar (Std).

7.3 Efecto de las fracciones sobre la glucosa en ayunas y el peso corporal

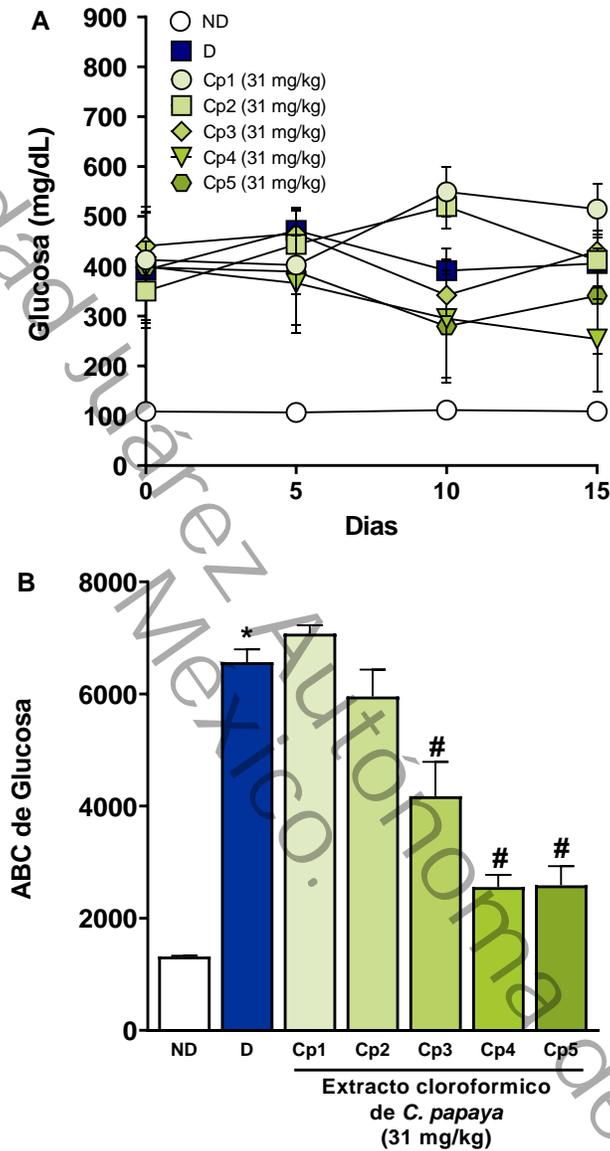
Para evaluar la actividad hipoglucemiante de las fracciones, este estudio demuestra que el tratamiento durante 15 días con Cp3, Cp4 y Cp5 (31 mg/kg) redujo el ABC de los niveles de glucosa en ayunas en ratas diabéticas ($4176 \pm 613,50$, $2555 \pm 217,70$ y $2587 \pm 342,50$, respectivamente) en comparación con el grupo D ($6569 \pm 227,70$) (Figura 6). El ABC del peso corporal de las ratas diabéticas que recibieron Cp4 y Cp5 fue mayor que el del grupo D ($P \leq 0,05$); de manera inesperada, la administración de Cp2 disminuyó el AUC del peso corporal en ratas diabéticas más que en el grupo D ($2318 \pm 31,62$ y $2559 \pm 46,17$, respectivamente). El ABC de los niveles de glucosa en ayunas fue mayor en el grupo D en comparación con el grupo ND ($P \leq 0,05$) (Figura 7).

7.4 Efecto de las fracciones en los parámetros bioquímicos en suero

Los grupos de ratas diabéticas tratadas con Cp3, Cp4 y Cp5 disminuyeron los niveles de glucosa sérica ($203,33 \pm 66,62$, $114,66 \pm 12,71$ y $98,33 \pm 5,58$) en comparación con el grupo D ($418,36 \pm 16,89$) (Tabla 5). Los cinco grupos tratados con las fracciones mostraron niveles séricos de colesterol y triacilgliceroles más bajos que el grupo D ($p \leq 0,05$). Mientras que, los grupos de tratamiento con Cp3, Cp4 y Cp5 exhibieron niveles séricos de enzimas hepáticas (ALT, AST y ALP) más bajos que el grupo D ($p \leq 0,05$). Las ratas tratadas con Cp1 solo presentaron niveles más bajos de ALT, y las tratadas con Cp2 mostraron niveles aún más altos de esta enzima en comparación con grupo D ($p \leq 0,05$). Todos los parámetros bioquímicos aumentaron en el grupo D en comparación con ND ($p \leq 0,05$) (Tabla 5).

Figura 6

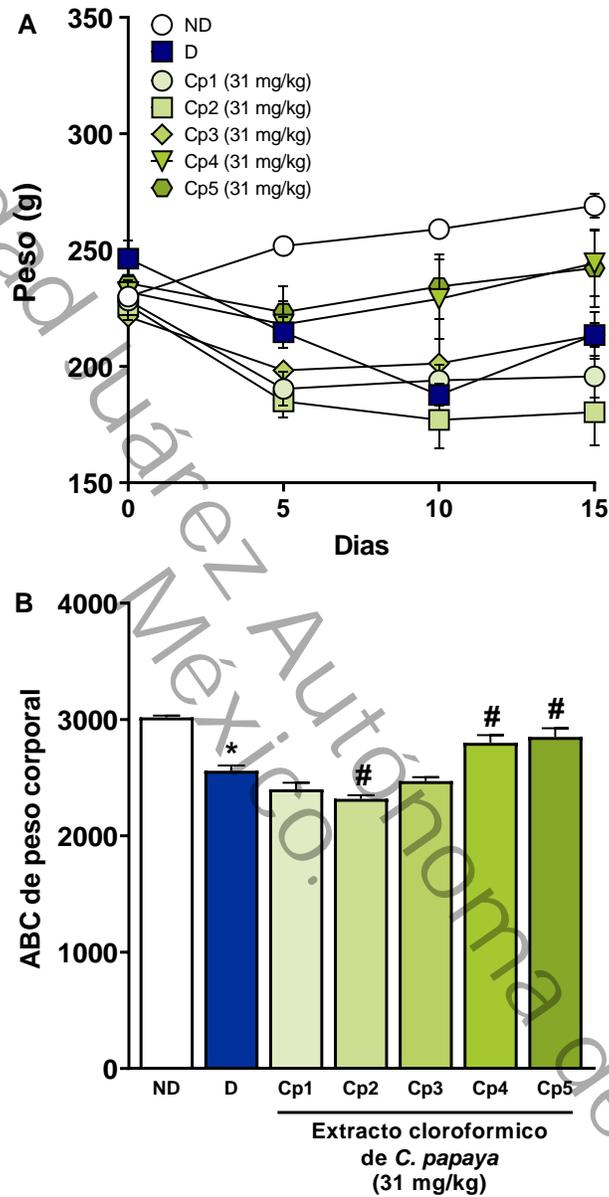
Efecto de las fracciones en los niveles de glucosa periférica



Nota: Curso temporal de los valores de glucosa periférica en ayunas durante 15 días de tratamiento con fracciones del extracto cloroformico en ratas diabéticas (A) y gráfico del área bajo la curva del curso temporal (B). Los datos se expresan como media \pm SEM. (n=6), analizados mediante ANOVA seguido de la prueba de Tukey. *En comparación con el grupo de control no diabético ($p \leq 0,05$) y #en comparación con el control diabético ($p \leq 0,05$). Fracciones (Cp1 a Cp5), grupo diabético (D) y grupo no diabético (ND).

Figura 7

Efecto de las fracciones en el peso corporal



Nota: Curso temporal de los valores de peso corporal en ayunas durante 15 días de tratamiento con fracciones del extracto clorofórmico en ratas diabéticas (A) y gráfico del área bajo la curva del curso temporal (B). Los datos se expresan como media \pm SEM. (n=6), analizados mediante ANOVA seguido de la prueba de Tukey. *En comparación con el grupo de control no diabético ($p \leq 0,05$) y #en comparación con el control diabético ($p \leq 0,05$). Fracciones (Cp1 a Cp5), grupo diabético (D) y grupo no diabético (ND).

Tabla 5*Efecto de las fracciones en parámetros bioquímicos*

Grupo	Glu (mg/dL)	Col (mg/dL)	TAG (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)
ND	90.90 ± 5.58	73.03 ± 2.99	98.67 ± 5.03	235.70 ± 14.36	35.00 ± 3.59	169.00 ± 7.33
D	418.36 ± 16.89*	88.00 ± 2.81*	180.5 ± 7.92*	478.20 ± 35.39*	279.7 ± 19.22*	752.70 ± 43.40*
Cp1	493.66 ± 11.81	50.67 ± 0.42[#]	134.30 ± 2.10[#]	393.00 ± 152.50	181.00 ± 35.10[#]	561.70 ± 55.76
Cp2	435.00 ± 1.05	52.00 ± 0.73[#]	98.33 ± 1.64[#]	559.50 ± 69.56	468.00 ± 94.21[#]	771.00 ± 97.86
Cp3	203.33 ± 66.62[#]	69.33 ± 2.14[#]	74.67 ± 11.35[#]	158.00 ± 21.19[#]	57.00 ± 2.03[#]	301.00 ± 64.15[#]
Cp4	114.66 ± 12.71[#]	65.67 ± 3.73[#]	69.00 ± 1.93[#]	198.00 ± 45.22[#]	71.33 ± 23.61[#]	259.00 ± 35.14[#]
Cp5	98.33 ± 5.58[#]	71.00 ± 1.31[#]	69.00 ± 1.93[#]	124.7 ± 2.56[#]	41.33 ± 2.14[#]	228.00 ± 4.66[#]

Nota: Los datos se expresan como media ± SEM (n=6). Los resultados fueron analizados mediante ANOVA seguido de la prueba de Tukey. *En comparación con el grupo de control no diabético; [#]en comparación con el control diabético (p ≤ 0,05). Control no diabético (ND), grupo diabético (D), fracciones (Cp1 a Cp5), glucosa (Glu), colesterol (Col), triacilgliceroles (TAG), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y alcalina. fosfatasa (ALP).

8. Discusión

En este estudio, se identificó que las fracciones Cp3, Cp4 y Cp5 del extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* contienen terpenos, alcaloides y polifenoles (lignanos, taninos, flavonoides). Estas fracciones demostraron actividad hipoglucemiante en ratas diabéticas.

8.1. Contenido fitoquímico de fracciones del extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya*

La evidencia disponible reporta la presencia de diversos fitoquímicos en las hojas de *C. papaya*. Por ejemplo, en un extracto etanólico se identificaron saponinas, flavonoides y taninos, y en un extracto clorofórmico quinonas y esteroides, ambos con actividad hipoglucemiante (Nyakundi y Yang, 2023; Sasidharan *et al.*, 2011). En un estudio sobre el perfil de metabolitos de las hojas de *C. papaya* se informó la presencia de fenoles (apigenina, ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido cinámico, ácido cumárico, hesperidina, naringenina, ácido protocatecúico, rutina y ácido vanílico), aminoácidos (alanina, ácido aspártico, cisteína, GABA, ácido glutámico ácido, histidina, leucina, fenilalanina, serina, triptófano, tirosina y valina) y carbohidratos (rafinosa, sacarosa, α -glucosa y β -glucosa) (Gogna *et al.*, 2015). Además, Anjum *et al.* (2017) en el jugo de hojas de *C. papaya* determinaron fenoles, alcaloides y ácidos hidroxicinámicos (Anjum *et al.*, 2017). Por su parte, Khor *et al.* (2021) detectaron α -tocoferol, escualeno, campesterol, estigmasterol, β -sitosterol, ácido hexadecanoico, γ -tocoferol, cicloartenol, triterpenos, carpaína y rutina en extractos de hojas de *C. papaya* elaborados con dióxido de carbono supercrítico (Khor *et al.*, 2021).

Nuestro estudio reveló que las fracciones Cp3, Cp4 y Cp5, las cuales presentaron actividad hipoglucemiante, contenían terpenos, lignanos, derivados de genipósido, apigenina, cafeína, ácido vanílico, catequina y ácido gálico. En contraste, las fracciones Cp1 y Cp2, sin actividad hipoglucemiante, exhibieron terpenos, derivados de genipósido, naringenina y apigenina. Estos resultados sugieren una relación con el tipo de solvente utilizado, ya que las fracciones con mayor polaridad (Cp3, Cp4 y Cp5) mostraron actividad hipoglucemiante. De manera similar, otros estudios han empleado solventes polares en extractos de hojas de *C. papaya* con efecto hipoglucemiante (Santana *et al.*, 2019; Sasidharan *et al.*, 2011).

8.2. Actividad hipoglucemiante de las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya*

Nosotros observamos que la administración de 60 mg/kg de STZ en ratas produjo un aumento en los niveles de glucosa en sangre. Por otro lado, los animales que recibieron tratamiento con las fracciones Cp3, Cp4 y Cp5 mostraron una reducción en los niveles de glucosa en sangre. De acuerdo con la literatura, la actividad hipoglucemiante está relacionada con la presencia de fenoles. Deka *et al.* (2022) sugieren que estos compuestos regulan el metabolismo de la glucosa mediante el aumento de la sensibilidad a la insulina, inhibición de α glucosidasa/ α amilasa, activación de PPAR y la vía AMPK (Deka *et al.*, 2022).

Roy *et al.* (2022) informaron que el extracto etanólico de hojas de *C. papaya* reduce glucosa sérica y aumenta la insulina en ratas con diabetes tipo 2, debido a un aumento en la expresión de GLUT4 y el receptor de insulina. Además, la evaluación *in silico* de compuestos de este extracto demostró que el kaempferol, quercetina y ácido

transferúlico de *C. papaya* fueron los tres ligandos principales de GLUT4 y del receptor de insulina (Roy *et al.*, 2022). En otra investigación, se reportó que la naringenina aumenta de la sensibilidad a insulina, disminuye la glucosa en sangre y la inflamación en ratones con diabetes gestacional. Además, en cultivos celulares, la naringenina aumenta la expresión de GLUT4 al activar la AMPK (Li *et al.*, 2019). Adicionalmente, Radmehr *et al.* (2023) indicaron que el ácido gálico aumenta la sensibilidad a insulina, reduce la glucosa y enzimas hepáticas en suero ratones con diabetes (Radmehr *et al.*, 2023). Por su parte, el ácido vanílico regula la glucosa sérica mediante la disminución de la resistencia a la insulina y la respuesta inflamatoria en hígado (Chang *et al.*, 2015). También, se ha descrito que los extractos preparados con dióxido de carbono supercrítico y el jugo de hojas de *C. papaya*, exhiben propiedades antioxidantes atribuidas a compuestos fenólicos (rutina y α -tocoferol) (Khor *et al.*, 2021). Asimismo, Samarghandian *et al.* (2017) revelaron que la catequina disminuye glucosa y el estrés oxidativo en ratas diabéticas (Samarghandian *et al.*, 2017). *Prunus domestica* presenta efecto hipoglucemiante mediante el pinoresinol-4-O- β -D-glucopiranosido (lignano) que inhibe la enzima α -glucosidasa *in vitro* (Youssef *et al.*, 2020). Estos reportes son similares a nuestros hallazgos en las fracciones Cp3, Cp4 y Cp5 de *C. papaya* con actividad hipoglucemiante relacionado con su contenido fitoquímico (lignanos, ácido vanílico, naringenina, catequina y ácido gálico).

Los terpenos y los alcaloides se consideran fitoquímicos con actividad hipoglucemiante (Shehadeh *et al.*, 2021). De acuerdo con Ihara *et al.* (2023) la cafeína aumenta la secreción de la insulina y el volumen de las células β pancreáticas (Ihara *et al.*, 2023). También, el terpeno genipósido promueve la regeneración de las células β *in vivo*

mediante activación del complejo de transcripción β -catenina/TCF7L2 (Gao y Feng, 2022). La β -catenina juega un papel clave en la regulación de procesos celulares, como la proliferación y diferenciación (Zhang y Wang, 2020). En relación con esto, el extracto clorofórmico de la hoja de *C. papaya* tiene un efecto protector en células β en cultivos celulares tratados con STZ (Santana *et al.*, 2019). Además, un estudio de *P. pavonia* reportó que los terpenos aumentan la sensibilidad a insulina y disminuyen la glucosa, lípidos y el estrés oxidativo en ratas diabéticas (Germoush *et al.*, 2019).

En conjunto, estos compuestos de *C. papaya* podrían regular el metabolismo de la glucosa mediante la disminución del estrés oxidativo, el aumento de la expresión de GLUT4 e inhibición enzimática.

8.3. Actividad hipolipemiante de las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya*

En la diabetes, se observa un aumento en los niveles de triacilglicérolos, LDL y VLDL, así como una disminución de HDL. Esto se debe a la sobreproducción hepática de VLDL con APOB, al aumento de la secreción intestinal de APOB48, al aclaramiento desregulado de las lipoproteínas ricas en triacilglicérolos y a la actividad deficiente de la lipoproteína lipasa (Espinoza-Hernández y Andrade-Cetto, 2022; Kothari y Bornfeldt, 2020).

En nuestro estudio las ratas diabéticas mostraron niveles elevados de colesterol y triacilglicérolos en sangre. Asimismo, los animales diabéticos tratados con Cp1, Cp2, Cp3, Cp4 y Cp5 presentaron una disminución en los niveles de colesterol y triacilglicéridos. Estos resultados están de acuerdo con Maniyar y Bhixavatimath (2012), demuestran que el extracto acuoso de hojas de *C. papaya* (400 mg/kg)

disminuye el colesterol y triacilgliceroles en suero en ratas diabéticas (Maniyar y Bhixavatimath, 2012).

En un estudio se describe que el ácido gálico reduce la hiperlipidemia mediante la regulación de los niveles de glucosa en ratas diabéticas (Radmehr *et al.*, 2023). La evidencia indica que las catequinas participan en el efecto hipolipemiante a través de la inhibición de radicales libres de oxígeno (ROS) (Samarghandian *et al.*, 2017). Adicionalmente, Germoush *et al.* (2019) informan que los terpenos participan en la activación de PPAR γ lo que provoca la disminución de la concentración en sangre de triacilgliceroles, colesterol, LDL-C, y VLDL-C en ratas diabéticas (Germoush *et al.*, 2019). Los receptores PPAR regulan la oxidación de ácidos grasos generando la expresión de translocasa de ácido graso CD36, encargada de la absorción de ácidos grasos (Eid *et al.*, 2019). Otro estudio señala que el ácido vanílico reduce la acumulación de ácidos grasos libres no esterificados en hígado mediante la expresión del acetil CoA carboxilasa fosforilada, una enzima que participa en la síntesis de ácidos grasos (Chang *et al.*, 2015).

En nuestra investigación, hemos observado que las fracciones Cp4 y Cp5 tienen el efecto de disminuir los niveles de glucosa y lípidos, al tiempo que aumentan el peso corporal en ratas diabéticas. Este efecto podría estar vinculado, ya que la pérdida de peso en las ratas diabéticas podría relacionarse con un aumento en el metabolismo de los lípidos y las proteínas para la gluconeogénesis. Esto, a su vez, podría llevar a una pérdida de tejido adiposo y musculo esquelético (Galicia-Garcia *et al.*, 2020; Sukanya *et al.*, 2020). Por lo tanto, los compuestos de *C. papaya* que regulan los niveles de

glucosa y lípidos podrían restaurar el peso corporal de las ratas diabéticas al inhibir la gluconeogénesis, lipólisis y proteólisis.

8.4. Actividad hepatoprotectora de las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya*

La diabetes se asocia con estrés oxidativo generado por ROS y una respuesta inflamatoria mediada por 1β , IL-6 y factor de necrosis tumoral- α , considerados factores que contribuyen al daño hepático (Oguntibeju, 2019). Las enzimas ALP, ALT y AST participan en la homeostasis de la glucosa, insulina y citocinas inflamatorias en el hígado (Rafaqat *et al.*, 2023). Nosotros observamos aumento de las concentraciones séricas de ALT, AST y ALP en ratas diabéticas, y una disminución de estas enzimas hepáticas en los grupos tratados con Cp3, Cp4 y Cp5. En este contexto, los lignanos disminuyen los niveles de las enzimas hepáticas y aumentan la actividad de la catalasa y superóxido dismutasa en el suero de ratas diabéticas (Youssef *et al.*, 2020). Asimismo, la evidencia demuestra que el ácido gálico inhibe la respuesta inflamatoria mediante la disminución de los niveles de TNF- α y NF- κ B en hígado de ratones diabéticos (Radmehr *et al.*, 2023). Además, el ácido vanílico reduce la expresión de ciclooxigenasa-2 y la proteína quimioatrayente de monocitos-1 en el hígado de ratas con una dieta alta en grasas (Chang *et al.*, 2015).

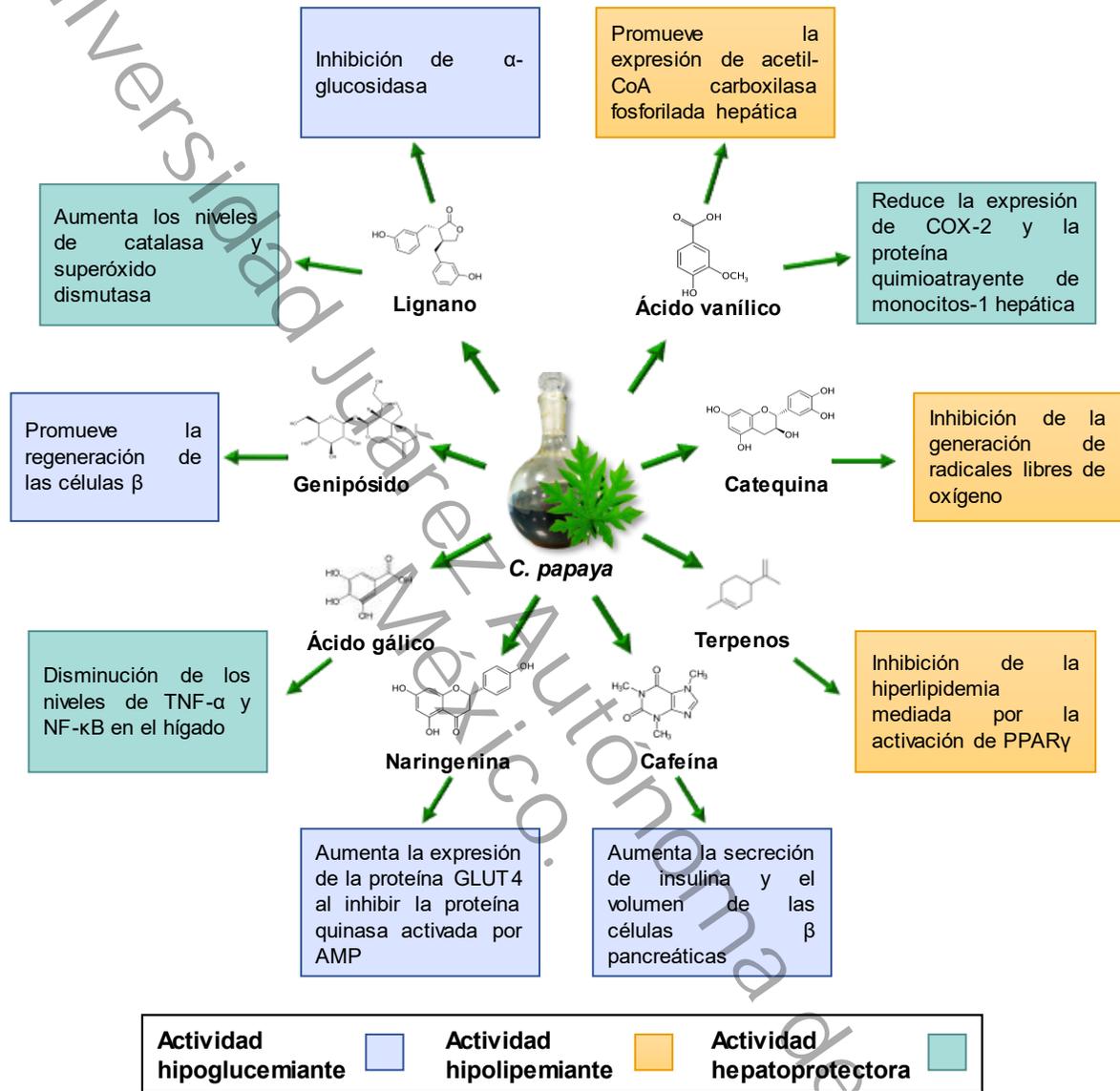
La actividad antiinflamatoria y antioxidante participan en la obesidad y la diabetes. La inflamación asociada con la obesidad activa la vía del NF- κ B en el tejido adiposo, relacionándose con la resistencia a la insulina (Chen *et al.*, 2023). También, la vía del NF- κ B es activada por la generación de ROS, la cual promueve la liberación de moléculas de adhesión y factores proinflamatorios (Jin *et al.*, 2023). Interesantemente,

las ratas diabéticas tratadas con Cp1 y Cp2 presentaron niveles elevados de ALT y AST en comparación con los animales del grupo control no diabético. En este sentido, existen evidencias acerca de plantas que pueden generar metabolitos hepatotóxicos (Teschke *et al.*, 2021).

El presente estudio es novedoso al abordar por primera vez el fraccionamiento del extracto clorofórmico de *C. papaya* con actividad antidiabética asociada con su contenido fitoquímico. Entre estos compuestos se destacan terpenos, lignanos, derivados de genipósido, naringenina, cafeína, ácido vanílico, catequina y ácido gálico (Figura 8), lo que contribuye a la investigación de los productos naturales para el tratamiento de la diabetes.

Figura 8

Actividad antidiabética de C. papaya



9. Conclusión

La investigación reveló que las fracciones Cp3, Cp4 y Cp5 del extracto clorofórmico de las hojas de *C. papaya* contienen terpenos, alcaloides, lignanos, taninos, ácidos fenólicos y flavonoides. Además, estas fracciones mostraron disminución de los niveles de glucosa, lípidos y enzimas hepáticas (actividad antidiabética) en ratas diabéticas. Estos hallazgos sugieren a los metabolitos de las hojas de *C. papaya* como una alternativa en el desarrollo de fármacos para el tratamiento de la diabetes, sin embargo, se requieren realizar estudios fitoquímicos de las hojas de *C. papaya* que se enfoquen en la identificación y aislamiento de compuestos con actividad antidiabética.

10. Bibliografía

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci*, 12(1), 1-10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Ahmad Dar, A., Sangwan, P. L., & Kumar, A. (2020). Chromatography: An important tool for drug discovery. *J Sep Sci*, 43(1), 105-119. <https://doi.org/10.1002/jssc.201900656>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Curr Res Food Sci*, 4, 200-214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Anjum, V., Arora, P., Ansari, S. H., Najmi, A. K., & Ahmad, S. (2017). Antithrombocytopenic and immunomodulatory potential of metabolically characterized aqueous extract of *Carica papaya* leaves. *Pharm Biol*, 55(1), 2043-2056. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1346690>
- Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria: A Multiregional Ethnobotanical Study. *Front Pharmacol*, 12, 760492. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760492>
- Boldura, O. M., Balta, C., & Awwad, P. N. (2020). *Biochemical Analysis Tools: Methods for Bio-Molecules Studies*. IntechOpen. <https://books.google.com.mx/books?id=0Er9DwAAQBAJ>
- Calixto, J. B. (2019). The role of natural products in modern drug discovery. *An Acad Bras Cienc*, 91 Suppl 3, e20190105. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920190105>
- Call, J. T., Cortés, P., & Harris, D. M. (2022). A practical review of diabetes mellitus type 2 treatment in primary care %J Romanian Journal of Internal Medicine. 60(1), 14-23. <https://doi.org/doi:10.2478/rjim-2021-0031>
- Cao, R., Tian, H., Zhang, Y., Liu, G., Xu, H., Rao, G., . . . Fu, X. (2023). Signaling pathways and intervention for therapy of type 2 diabetes mellitus. *MedComm (2020)*, 4(3), e283. <https://doi.org/10.1002/mco2.283>
- Chang, W. C., Wu, J. S., Chen, C. W., Kuo, P. L., Chien, H. M., Wang, Y. T., & Shen, S. C. (2015). Protective Effect of Vanillic Acid against Hyperinsulinemia, Hyperglycemia and Hyperlipidemia via Alleviating Hepatic Insulin Resistance and Inflammation in High-Fat Diet (HFD)-Fed Rats. *Nutrients*, 7(12), 9946-9959. <https://doi.org/10.3390/nu7125514>
- Chen, Y. K., Liu, T. T., Teia, F. K. F., & Xie, M. Z. (2023). Exploring the underlying mechanisms of obesity and diabetes and the potential of Traditional Chinese Medicine: an overview of the literature. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, 1218880. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1218880>
- Chiocchio, I., Mandrone, M., Tomasi, P., Marincich, L., & Poli, F. (2021). Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy. *Molecules*, 26(2). <https://doi.org/10.3390/molecules26020495>
- Chuo, S. C., Nasir, H. M., Mohd-Setapar, S. H., Mohamed, S. F., Ahmad, A., Wani, W. A., . . . Alarifi, A. (2022). A Glimpse into the Extraction Methods of Active Compounds from Plants. *Crit Rev Anal Chem*, 52(4), 667-696. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1820851>

- Coskun, O. (2016). Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*, 3(2), 156-160. <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>
- Costa Marques, T. H., Santos De Melo, C. H., Fonseca De Carvalho, R. B., Costa, L. M., De Souza, A. A., David, J. M., . . . De Freitas, R. M. (2013). Phytochemical profile and qualification of biological activity of an isolated fraction of *Bellis perennis*. *Biol Res*, 46(3), 231-238. <https://doi.org/10.4067/s0716-97602013000300002>
- Courteix, C., Bardin, M., Chantelauze, C., Lavarenne, J., & Eschalier, A. (1994). Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. *Pain*, 57(2), 153-160. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90218-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90218-6)
- de Mesquita, M. L., Leão, W. F., Ferreira, M. R., de Paula, J. E., Espindola, L. S., & Soares, L. A. (2015). Reversed-phase-liquid chromatography method for separation and quantification of gallic acid from hydroalcoholic extracts of *Qualea grandiflora* and *Qualea parviflora*. *Pharmacogn Mag*, 11(Suppl 2), S316-321. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.166062>
- Deka, H., Choudhury, A., & Dey, B. K. (2022). An Overview on Plant Derived Phenolic Compounds and Their Role in Treatment and Management of Diabetes. *J Pharmacopuncture*, 25(3), 199-208. <https://doi.org/10.3831/kpi.2022.25.3.199>
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., . . . Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 505-567. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816455-6.00015-9>
- Eid, S., Sas, K. M., Abcouwer, S. F., Feldman, E. L., Gardner, T. W., Pennathur, S., & Fort, P. E. (2019). New insights into the mechanisms of diabetic complications: role of lipids and lipid metabolism. *Diabetologia*, 62(9), 1539-1549. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4959-1>
- ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., . . . Gabbay, R. A. (2022). Introduction and Methodology: Standards of Care in Diabetes—2023. *Diabetes Care*, 46(Supplement_1), S1-S4. <https://doi.org/10.2337/dc23-Sint> %J Diabetes Care
- ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., . . . on behalf of the American Diabetes, A. (2023a). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care*, 46(Suppl 1), S19-s40. <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>
- ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., . . . on behalf of the American Diabetes, A. (2023b). 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care*, 46(Suppl 1), S140-s157. <https://doi.org/10.2337/dc23-S009>
- Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiol*, 184(1), 39-52. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00433>
- Escandón-Rivera, S. M., Mata, R., & Andrade-Cetto, A. (2020). Molecules Isolated from Mexican Hypoglycemic Plants: A Review. *Molecules*, 25(18), 4145. <https://doi.org/10.3390/molecules25184145>
- Espinoza-Hernández, F. A., & Andrade-Cetto, A. (2022). Chronic Antihyperglycemic Effect Exerted by Traditional Extracts of Three Mexican Medicinal Plants. *Evid*

- Based Complement Alternat Med*, 2022, 5970358.
<https://doi.org/10.1155/2022/5970358>
- Florindo, C., McIntosh, A. J. S., Welton, T., Branco, L. C., & Marrucho, I. M. (2018). A closer look into deep eutectic solvents: exploring intermolecular interactions using solvatochromic probes [10.1039/C7CP06471C]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20(1), 206-213. <https://doi.org/10.1039/C7CP06471C>
- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., . . . Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*, 21(17). <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Gao, S., & Feng, Q. (2022). The Beneficial Effects of Geniposide on Glucose and Lipid Metabolism: A Review. *Drug Des Devel Ther*, 16, 3365-3383. <https://doi.org/10.2147/dddt.S378976>
- Germoush, M. O., Elgebaly, H. A., Hassan, S., Kamel, E. M., Bin-Jumah, M., & Mahmoud, A. M. (2019). Consumption of Terpenoids-Rich Padina pavonia Extract Attenuates Hyperglycemia, Insulin Resistance and Oxidative Stress, and Upregulates PPAR γ in a Rat Model of Type 2 Diabetes. *Antioxidants (Basel)*, 9(1), 22. <https://doi.org/10.3390/antiox9010022>
- Gogna, N., Hamid, N., & Dorai, K. (2015). Metabolomic profiling of the phytomedicinal constituents of Carica papaya L. leaves and seeds by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 115, 74-85. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.06.035>
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J. A., Apone, F., Abdel-Salam, E. M., Qahtan, A. A., . . . Faisal, M. (2018). Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. *Genes (Basel)*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/genes9060309>
- Guo, H., Wu, H., & Li, Z. (2023). The Pathogenesis of Diabetes. *Int J Mol Sci*, 24(8). <https://doi.org/10.3390/ijms24086978>
- Harreiter, J., & Roden, M. (2023). [Diabetes mellitus: definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2023)]. *Wien Klin Wochenschr*, 135(Suppl 1), 7-17. <https://doi.org/10.1007/s00508-022-02122-y> (Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2023).)
- Hasan, M. M., Ahmed, Q. U., Mat Soad, S. Z., & Tunna, T. S. (2018). Animal models and natural products to investigate in vivo and in vitro antidiabetic activity. *Biomed Pharmacother*, 101, 833-841. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.137>
- Hözl, G., & Dörmann, P. (2021). Thin-Layer Chromatography. *Methods Mol Biol*, 2295, 29-41. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1362-7_3
- Ihara, Y., Asahara, S. I., Inoue, H., Seike, M., Ando, M., Kabutoya, H., . . . Kido, Y. (2023). Chlorogenic Acid and Caffeine in Coffee Restore Insulin Signaling in Pancreatic Beta Cells. *Kobe J Med Sci*, 69(1), E1-e8.
- INEGI. (2023). *Estadística de defunciones registradas (EDR) enero a septiembre de 2022 (preliminar)*. Retrieved 16 de Agosto de 2023 from https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/EDR/EDR2022_3t.pdf
- Jain, S. M., & Priyadarshan, P. (2009). *Breeding plantation tree crops: tropical species* (Vol. 84). Springer.

- Janssen, L. M. M., Hilgsmann, M., Elissen, A. M. J., Joore, M. A., Schaper, N. C., Bosma, J. H. A., . . . Evers, S. (2020). Burden of disease of type 2 diabetes mellitus: cost of illness and quality of life estimated using the Maastricht Study. *Diabet Med*, 37(10), 1759-1765. <https://doi.org/10.1111/dme.14285>
- Jiang, Z., Kempinski, C., & Chappell, J. (2016). Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *Curr Protoc Plant Biol*, 1, 345-358. <https://doi.org/10.1002/cppb.20024>
- Jin, Q., Liu, T., Qiao, Y., Liu, D., Yang, L., Mao, H., . . . Zhan, Y. (2023). Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy: role of polyphenols. *Front Immunol*, 14, 1185317. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1185317>
- Juárez-Rojop, I. E., Díaz-Zagoya, J. C., Ble-Castillo, J. L., Miranda-Osorio, P. H., Castell-Rodríguez, A. E., Tovilla-Zárate, C. A., . . . Bermúdez-Ocaña, D. Y. (2012). Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med*, 12, 236. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-236>
- Juárez-Rojop, I. E., Tovilla-Zárate, C. A., Aguilar-Domínguez, D. E., Fuente, L. F. R.-d. I., Lobato-García, C. E., Blé-Castillo, J. L., . . . Bermúdez-Ocaña, D. Y. (2014). Phytochemical screening and hypoglycemic activity of *Carica papaya* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(3), 341-347. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.012>
- Khor, B. K., Chear, N. J., Azizi, J., & Khaw, K. Y. (2021). Chemical Composition, Antioxidant and Cytoprotective Potentials of *Carica papaya* Leaf Extracts: A Comparison of Supercritical Fluid and Conventional Extraction Methods. *Molecules*, 26(5), 1489. <https://doi.org/10.3390/molecules26051489>
- Kothari, V., & Bornfeldt, K. E. (2020). A New Treatment Strategy for Diabetic Dyslipidemia? *Diabetes*, 69(10), 2061-2063. <https://doi.org/10.2337/dbi20-0035>
- Kottaisamy, C. P. D., Raj, D. S., Prasanth Kumar, V., & Sankaran, U. (2021). Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review. *Lab Anim Res*, 37(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s42826-021-00101-4>
- Latos-Brozio, M., Masek, A., & Piotrowska, M. (2021). Novel Polymeric Biomaterial Based on Naringenin. *Materials (Basel)*, 14(9), 2142. <https://doi.org/10.3390/ma14092142>
- Li, S., Zhang, Y., Sun, Y., Zhang, G., Bai, J., Guo, J., . . . Wang, T. (2019). Naringenin improves insulin sensitivity in gestational diabetes mellitus mice through AMPK. *Nutr Diabetes*, 9(1), 28. <https://doi.org/10.1038/s41387-019-0095-8>
- Liu, H., Su, J., Liang, X., Zhang, X., He, Y. J., Huang, H. Q., . . . Zhang, W. D. (2011). Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicine Longdan Xiegan Pill by HPLC-DAD-ESI-MS. *J Pharm Anal*, 1(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/s2095-1779\(11\)70001-6](https://doi.org/10.1016/s2095-1779(11)70001-6)
- Maeda, H. A. (2019). Evolutionary Diversification of Primary Metabolism and Its Contribution to Plant Chemical Diversity. *Front Plant Sci*, 10, 881. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00881>
- Maniyar, Y., & Bhixavatimath, P. (2012). Antihyperglycemic and hypolipidemic activities of aqueous extract of *Carica papaya* Linn. leaves in alloxan-induced diabetic rats. *J Ayurveda Integr Med*, 3(2), 70-74. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.96519>

- Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. B., . . . Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chem X*, 13, 100217. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>
- Miranda-Osorio, P. H., Castell-Rodríguez, A. E., Vargas-Mancilla, J., Tovilla-Zárate, C. A., Ble-Castillo, J. L., Aguilar-Domínguez, D. E., . . . Díaz-Zagoya, J. C. (2016). Protective Action of Carica papaya on β -Cells in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Int J Environ Res Public Health*, 13(5), 446. <https://doi.org/10.3390/ijerph13050446>
- Moazzami, A. A., Andersson, R. E., & Kamal-Eldin, A. (2006). Characterization and analysis of sesamolignin diglucoside in sesame seeds. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70(6), 1478-1481. <https://doi.org/10.1271/bbb.60013>
- Muhammed, B. L., Seid, M. H., & Habte, A. T. (2021). Determination of Caffeine and Hydrogen Peroxide Antioxidant Activity of Raw and Roasted Coffee Beans Around Habru Woreda, Ethiopia Using UV-Vis Spectroscopy. *Clin Pharmacol*, 13, 101-113. <https://doi.org/10.2147/cpaa.S311032>
- Mukherjee, P. K. (2019). Chapter 8 - Thin-Layer Chromatography for Evaluation of Herbal Drugs. In P. K. Mukherjee (Ed.), *Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs* (pp. 329-376). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813374-3.00008-9>
- Najmi, A., Javed, S. A., Al Bratty, M., & Alhazmi, H. A. (2022). Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. *Molecules*, 27(2). <https://doi.org/10.3390/molecules27020349>
- Nyakundi, B. B., & Yang, J. (2023). Uses of Papaya Leaf and Seaweed Supplementations for Controlling Glucose Homeostasis in Diabetes. *Int J Mol Sci*, 24(7), 6846. <https://doi.org/10.3390/ijms24076846>
- Oguntibeju, O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 11(3), 45-63.
- Pandey, S., & Dvorakova, M. C. (2020). Future Perspective of Diabetic Animal Models. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 20(1), 25-38. <https://doi.org/10.2174/1871530319666190626143832>
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., . . . Würbel, H. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research*. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 40(9), 1769-1777. <https://doi.org/10.1177/0271678x20943823>
- Petrova, O. E., & Sauer, K. (2017). High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)-Based Detection and Quantitation of Cellular c-di-GMP. *Methods Mol Biol*, 1657, 33-43. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7240-1_4
- Radenković, M., Stojanović, M., & Prostran, M. (2016). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 78, 13-31. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2015.11.004>
- Radmehr, V., Mojadami, S., Ahangarpour, A., & Mard, S. A. (2023). Protective effects of crocin and gallic acid on the liver damage induced by methylglyoxal in male mice: role of inflammatory factors. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 16(1), 499-508. <https://doi.org/10.22037/ghfbb.v16i1.2620>

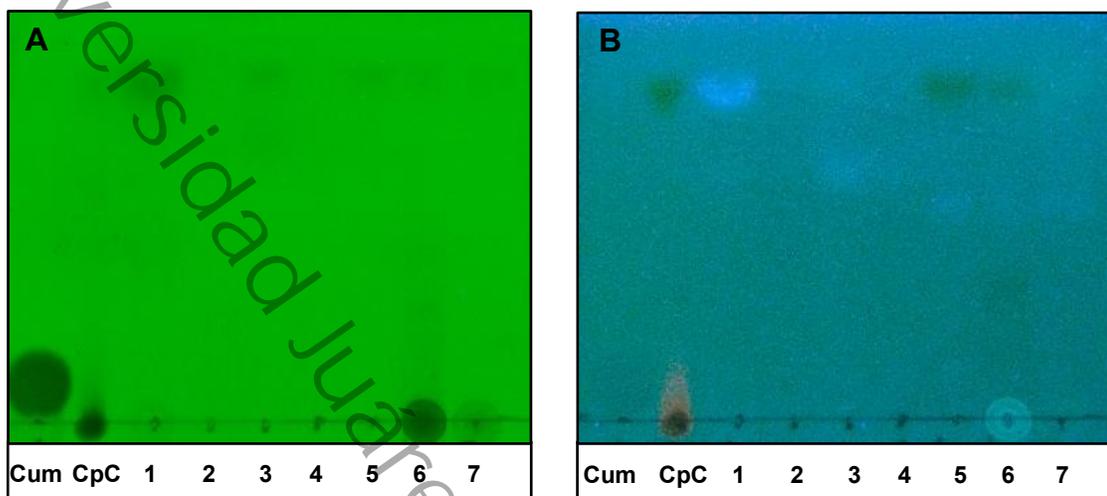
- Rafaqat, S., Sattar, A., Khalid, A., & Rafaqat, S. (2023). Role of liver parameters in diabetes mellitus - a narrative review. *Endocr Regul*, 57(1), 200-220. <https://doi.org/10.2478/enr-2023-0024>
- Rasheeda, K., Bharathy, H., & Nishad Fathima, N. (2018). Vanillic acid and syringic acid: Exceptionally robust aromatic moieties for inhibiting in vitro self-assembly of type I collagen. *Int J Biol Macromol*, 113, 952-960. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.015>
- Roy, J. R., Janaki, C. S., Jayaraman, S., Periyasamy, V., Balaji, T., Vijayamalathi, M., & Veeraraghavan, V. P. (2022). Carica papaya Reduces Muscle Insulin Resistance via IR/GLUT4 Mediated Signaling Mechanisms in High Fat Diet and Streptozotocin-Induced Type-2 Diabetic Rats. *Antioxidants (Basel)*, 11(10), 2081. <https://doi.org/10.3390/antiox11102081>
- Rudalevige, A. D., & Whitman, J. D. (2019). Procurement and Preservation of Plants. *Methods Mol Biol*, 1897, 191-212. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_18
- Sahu, P. K., Ramiseti, N. R., Cecchi, T., Swain, S., Patro, C. S., & Panda, J. (2018). An overview of experimental designs in HPLC method development and validation. *J Pharm Biomed Anal*, 147, 590-611. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.006>
- Salehi, B., Ata, A., N, V. A. K., Sharopov, F., Ramírez-Alarcón, K., Ruiz-Ortega, A., . . . Sharifi-Rad, J. (2019). Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components. *Biomolecules*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/biom9100551>
- Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., & Farkhondeh, T. (2017). Catechin Treatment Ameliorates Diabetes and Its Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Dose Response*, 15(1), 1559325817691158. <https://doi.org/10.1177/1559325817691158>
- Santana, L. F., Inada, A. C., Espirito Santo, B., Filiú, W. F. O., Pott, A., Alves, F. M., . . . Hiane, P. A. (2019). Nutraceutical Potential of Carica papaya in Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 11(7), 1608. <https://doi.org/10.3390/nu11071608>
- Sasidharan, S., Sumathi, V., Jegathambigai, N. R., & Latha, L. Y. (2011). Antihyperglycaemic effects of ethanol extracts of Carica papaya and Pandanus amaryfollius leaf in streptozotocin-induced diabetic mice. *Nat Prod Res*, 25(20), 1982-1987. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.523703>
- Sharma, N., Mishra, K. P., Chanda, S., Bhardwaj, V., Tanwar, H., Ganju, L., . . . Singh, S. B. (2019). Evaluation of anti-dengue activity of Carica papaya aqueous leaf extract and its role in platelet augmentation. *Arch Virol*, 164(4), 1095-1110. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04179-z>
- Shehadeh, M. B., Suaifan, G. A. R. Y., & Abu-Odeh, A. M. (2021). Plants Secondary Metabolites as Blood Glucose-Lowering Molecules. 26(14), 4333. <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/14/4333>
- Singh, S. P., Kumar, S., Mathan, S. V., Tomar, M. S., Singh, R. K., Verma, P. K., . . . Acharya, A. (2020). Therapeutic application of Carica papaya leaf extract in the management of human diseases. *Daru*, 28(2), 735-744. <https://doi.org/10.1007/s40199-020-00348-7>
- Sukanya, V., Pandiyan, V., Vijayarani, K., & Padmanath, K. (2020). A Study on Insulin Levels and the Expression of Glut 4 in Streptozotocin (STZ) Induced Diabetic

- Rats Treated with Mustard Oil Diet. *Indian J Clin Biochem*, 35(4), 488-496. <https://doi.org/10.1007/s12291-019-00852-x>
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., . . . Magliano, D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*, 183, 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants-Natural Health Products for Human Health. *Molecules*, 28(4). <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Teschke, R., Eickhoff, A., Schulze, J., & Danan, G. (2021). Herb-induced liver injury (HILI) with 12,068 worldwide cases published with causality assessments by Roussel Uclaf Causality Assessment Method (RUCAM): an overview. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 6, 51. <https://doi.org/10.21037/tgh-20-149>
- Vaughan, E. M., Rueda, J. J., Samson, S. L., & Hyman, D. J. (2020). Reducing the Burden of Diabetes Treatment: A Review of Low-cost Oral Hypoglycemic Medications. *Curr Diabetes Rev*, 16(8), 851-858. <https://doi.org/10.2174/1573399816666200206112318>
- Vázquez-Yanes, C., Batis-Muñoz, A., Alcocer-Silva, M., Gual-Díaz, M., & Sánchez-Dirzo, C. (1999). Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. 84, 201-204.
- Wandee, R., Sutthanut, K., Songsri, J., Sonsena, S., Krongyut, O., Tippayawat, P., . . . Rittirod, T. (2022). Tamarind Seed Coat: A Catechin-Rich Source with Anti-Oxidation, Anti-Melanogenesis, Anti-Adipogenesis and Anti-Microbial Activities. *Molecules*, 27(16). <https://doi.org/10.3390/molecules27165319>
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Youssef, F. S., Ashour, M. L., El-Beshbishy, H. A., Ahmed Hamza, A., Singab, A. N. B., & Wink, M. (2020). Pinoresinol-4-O- β -D-glucopyranoside: a lignan from prunes (*Prunus domestica*) attenuates oxidative stress, hyperglycaemia and hepatic toxicity in vitro and in vivo. *J Pharm Pharmacol*, 72(12), 1830-1839. <https://doi.org/10.1111/jphp.13358>
- Zhang, L., Song, J., Kong, L., Yuan, T., Li, W., Zhang, W., . . . Du, G. (2020). The strategies and techniques of drug discovery from natural products. *Pharmacol Ther*, 216, 107686. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107686>
- Zhang, Y., & Wang, X. (2020). Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *J Hematol Oncol*, 13(1), 165. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00990-3>

Anexo A. Cromatogramas TLC

Figura A.1

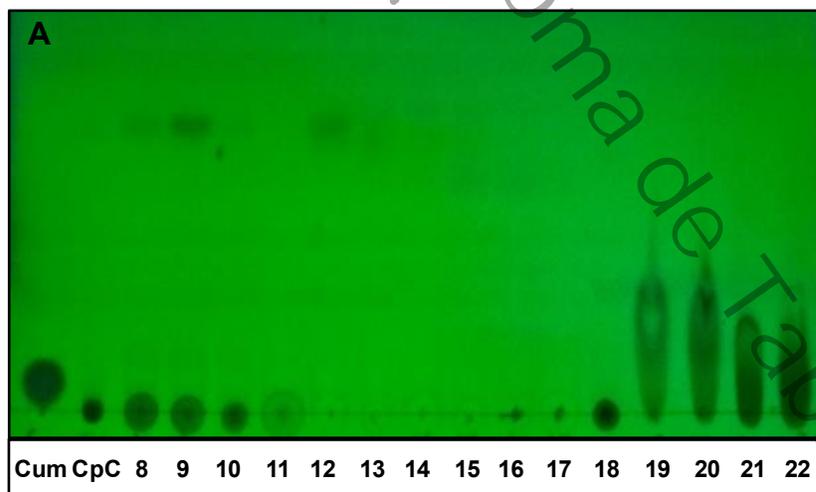
Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 1-7

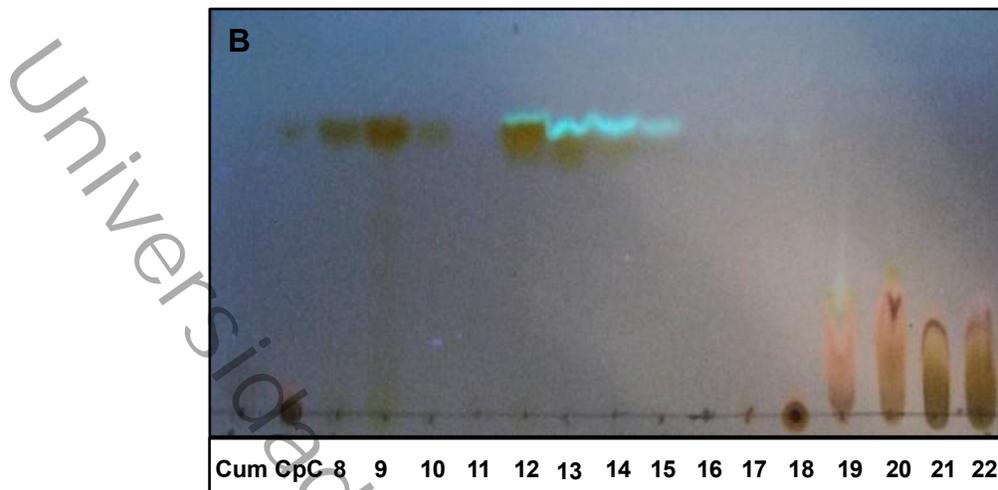


Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema hexano:acetato de etilo:ácido acético (95:5:0.5) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC) y estándar de cumarina (Cum)

Figura A.2

Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 8-22

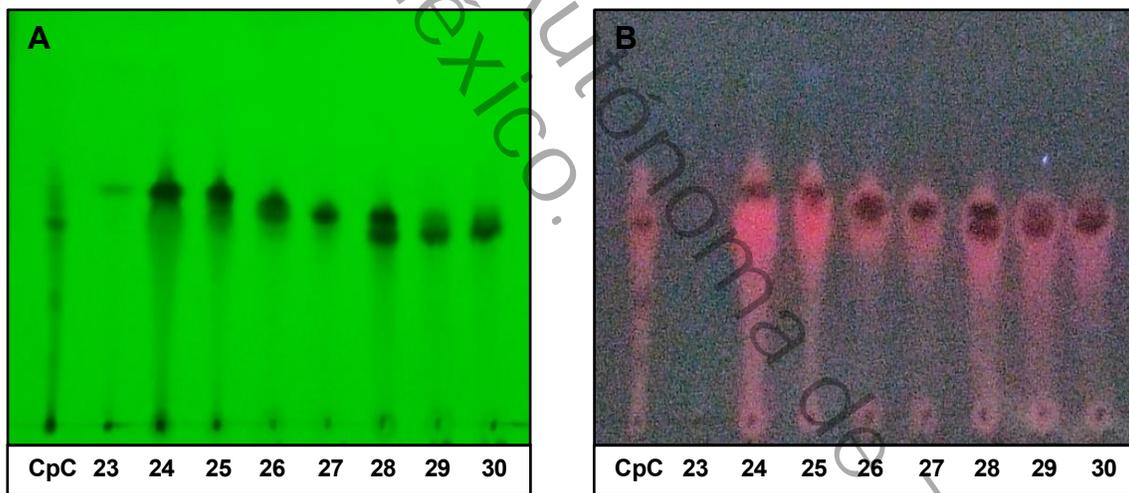




Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema hexano:acetato de etilo:ácido acético (95:5:0.5) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC) y estándar de cumarina (Cum)

Figura A.3

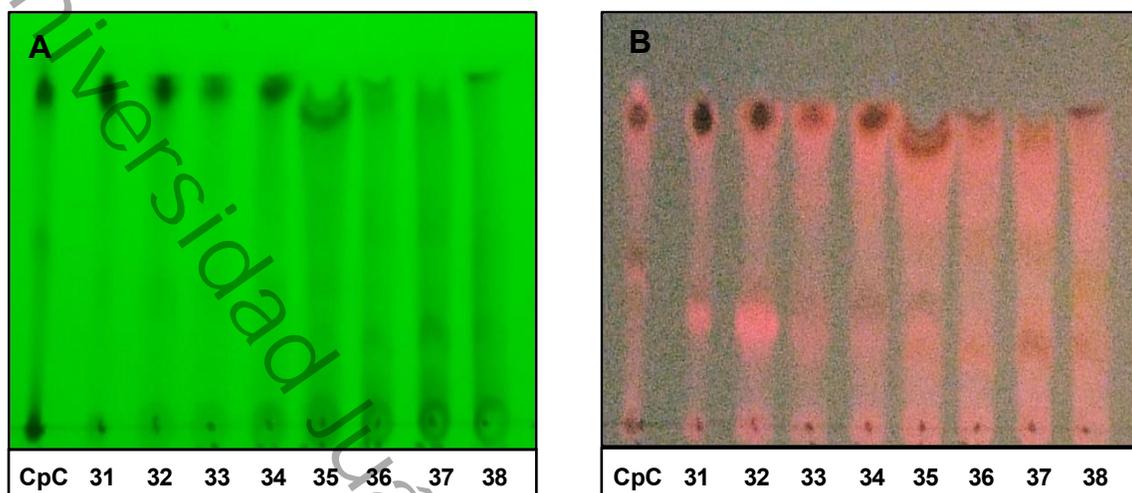
Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 23-30



Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema hexano:acetona (7:3) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC).

Figura A.4

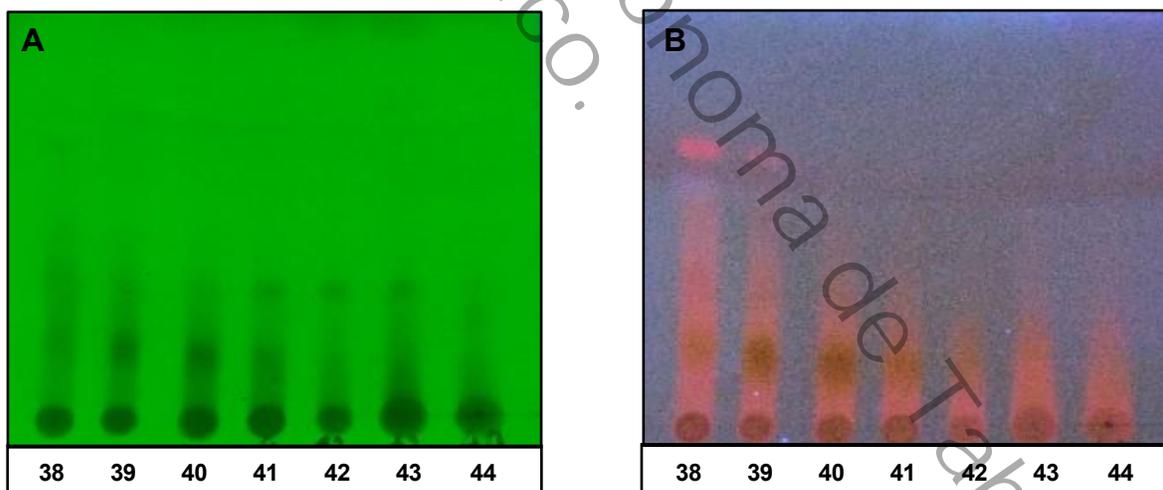
Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 31-38



Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema Diclorometano:acetona (7:3) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC).

Figura A.5

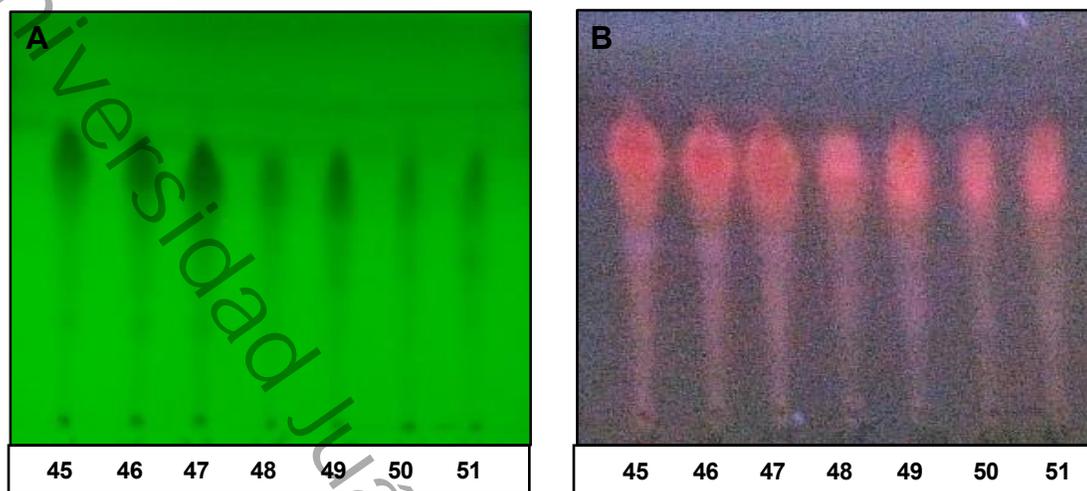
Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 38-44



Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema hexano:acetona (6:4) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC).

Figura A.6

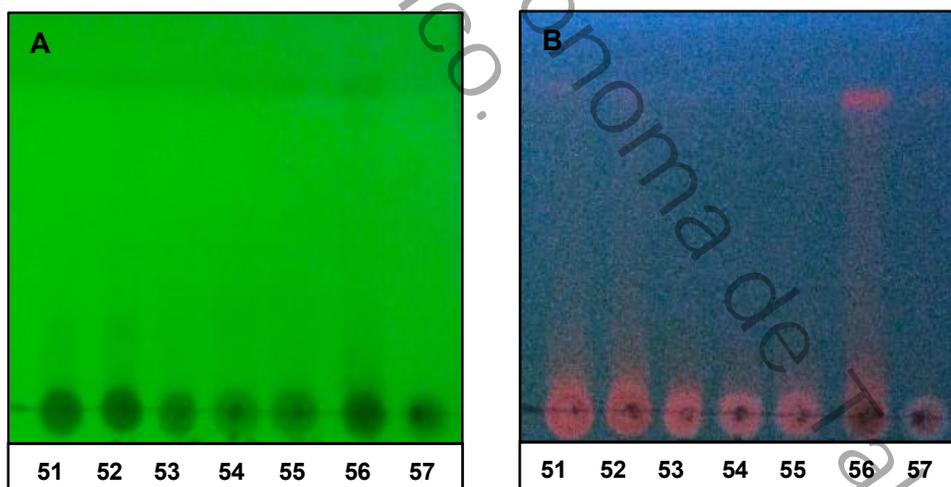
Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 45-51



Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema hexano:acetona (6:4) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC).

Figura A.7

Placas cromatográficas del extracto clorofórmico de *C. papaya* y fracciones 51-57

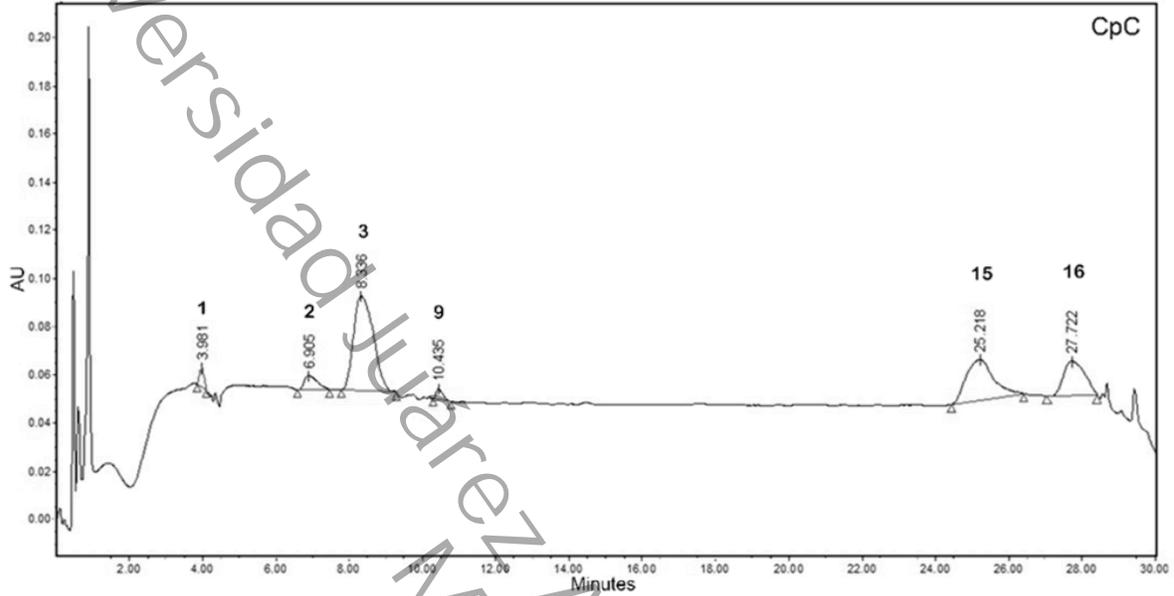


Nota. Placas de TLC eluidas con el sistema hexano:acetona (6:4) y observadas bajo lámpara UV a 254-nm (A) y 366-nm (B). Extracto clorofórmico de hojas de *C. papaya* (CpC).

Anexo B. Cromatogramas HPLC

Figura B.1

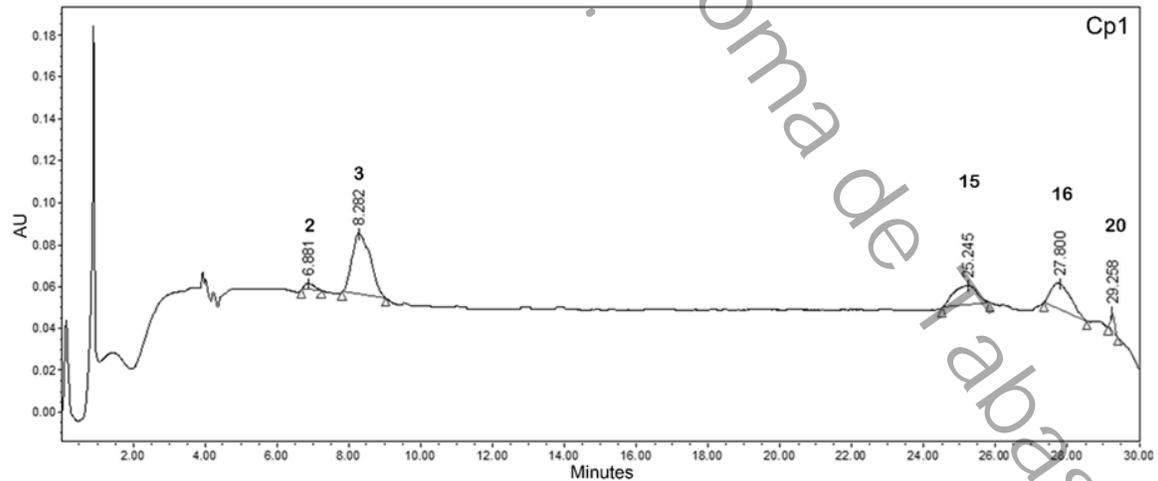
Cromatograma de CpC mostrado a una longitud de onda de detección de 240 nm.



Nota. AU (Unidad de absorbancia).

Figura B.2

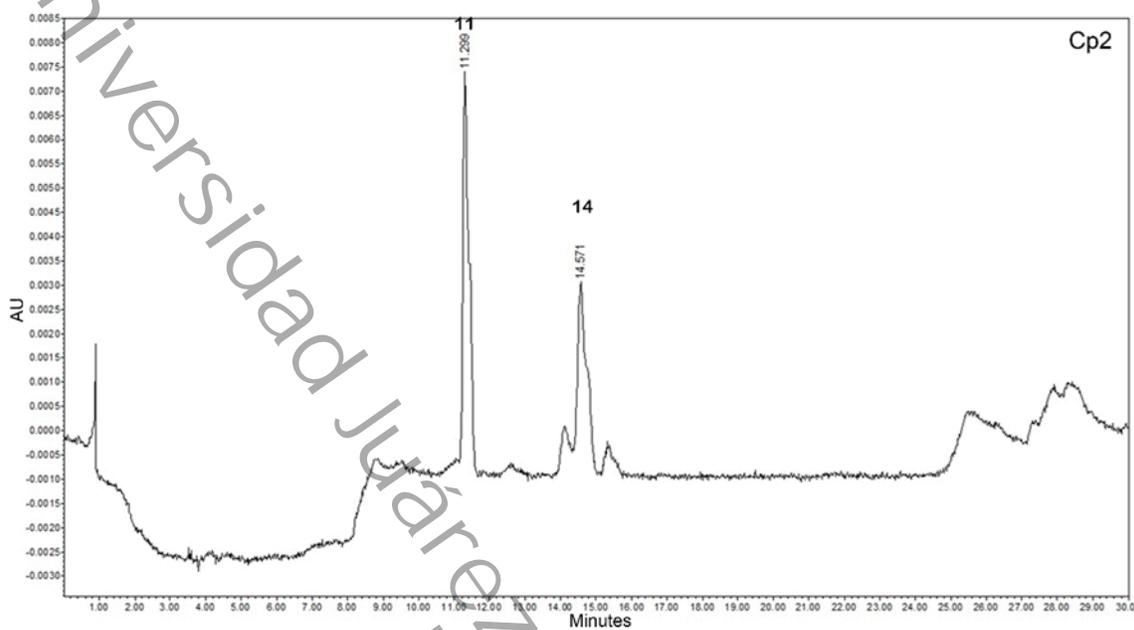
Cromatograma de la fracción Cp1 a una longitud de onda de detección de 240 nm.



Nota. AU (Unidad de absorbancia).

Figura B.3

Cromatograma de la fracción Cp2 a una longitud de onda de detección de 330 nm.

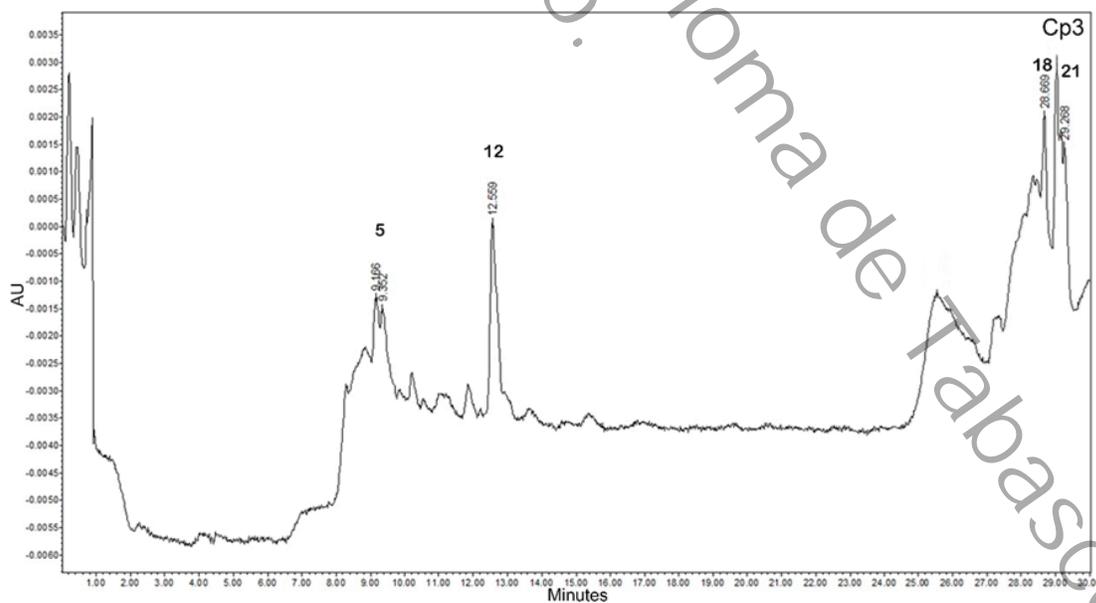


Nota:

AU (Unidades de absorbancia).

Figura B.4

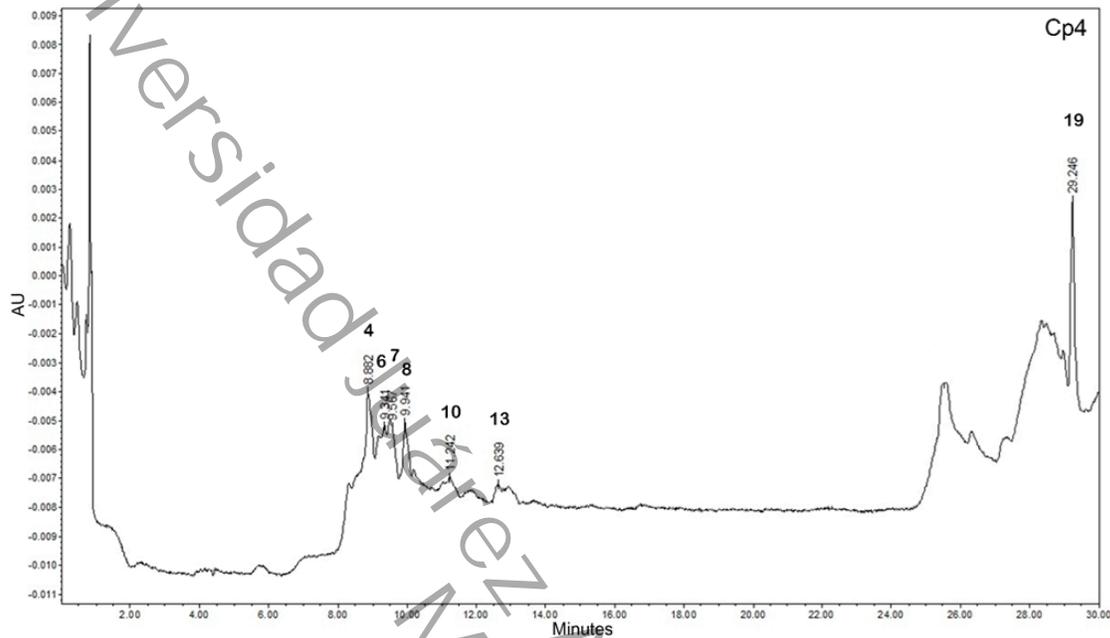
Cromatograma de la fracción Cp3 a una longitud de onda de detección de 280 nm.



Nota. AU (Unidad de absorbancia).

Figura B.5

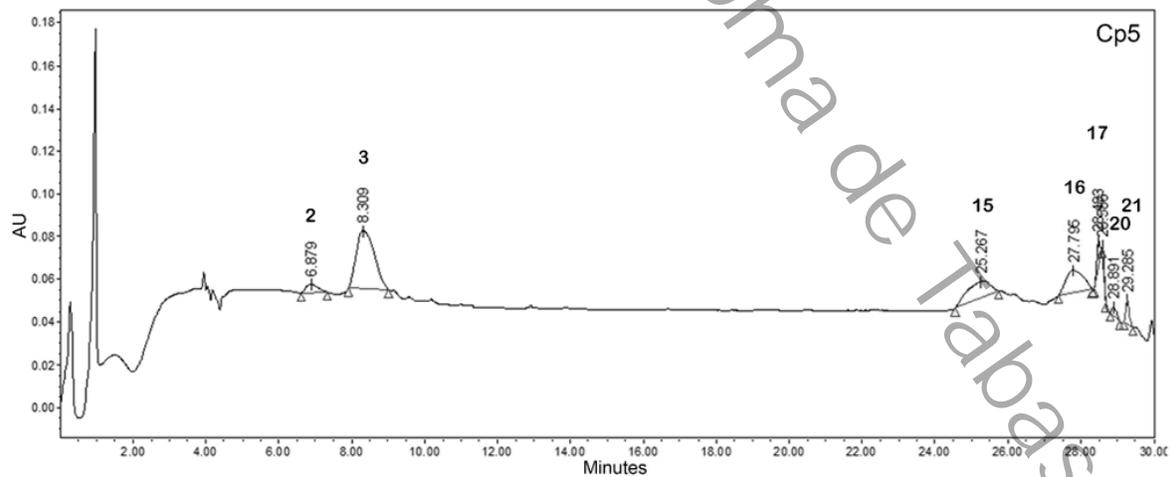
Cromatograma de la fracción Cp4 a una longitud de onda de detección de 280 nm.



Nota: AU (Unidades de absorbancia).

Figura B.6

Cromatograma de la fracción Cp5 a una longitud de onda de detección de 240 nm.

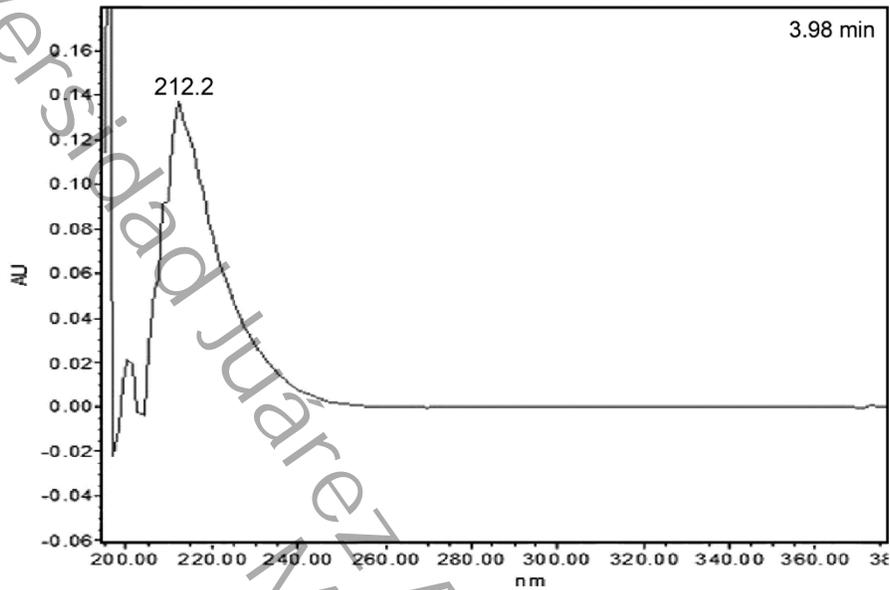


Nota. AU (Unidades de absorbancia).

Anexo C. Espectros UV-Vis de picos

Figura C.1

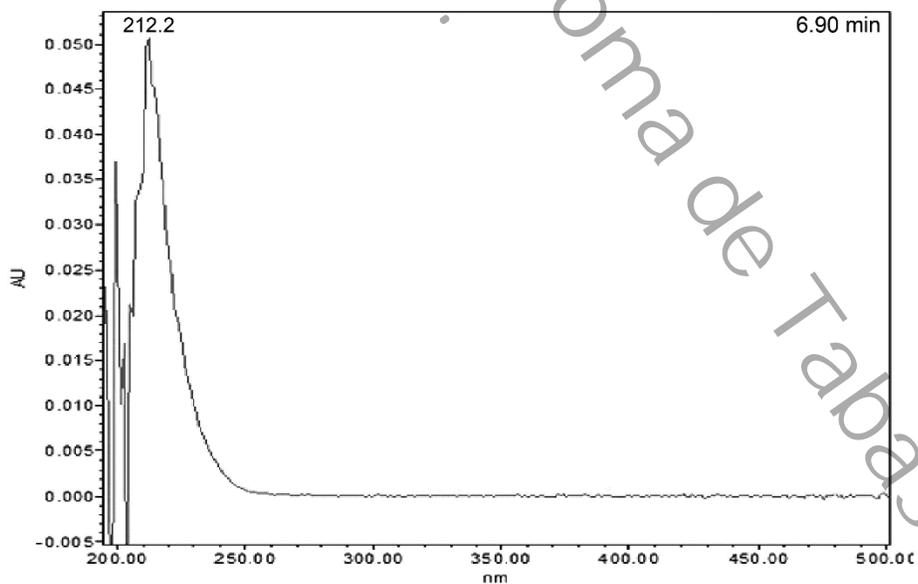
Espectro de absorción UV-Vis de pico 1



Nota. Pico detectado en CpC

Figura C.2

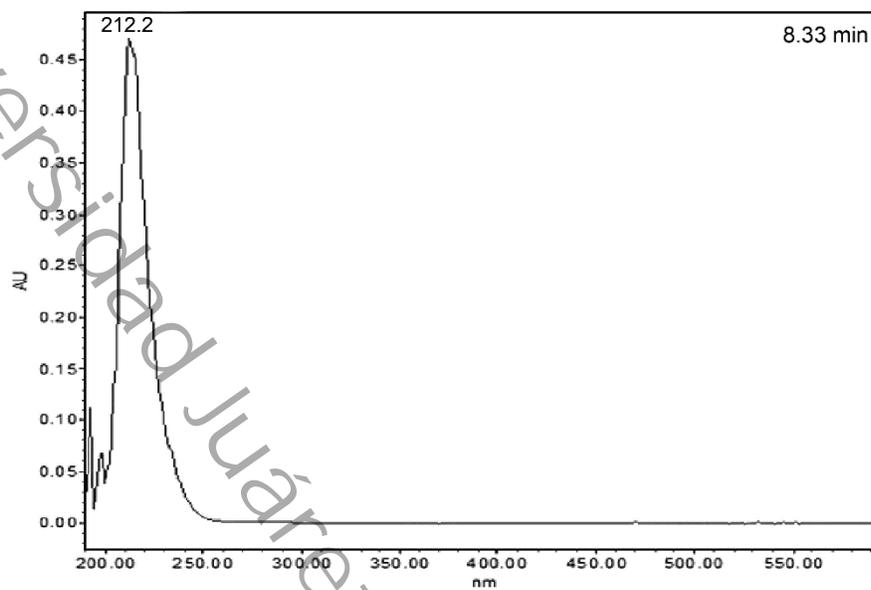
Espectro de absorción UV-Vis de pico 2



Nota. Pico detectado en CpC y Cp1

Figura C.3

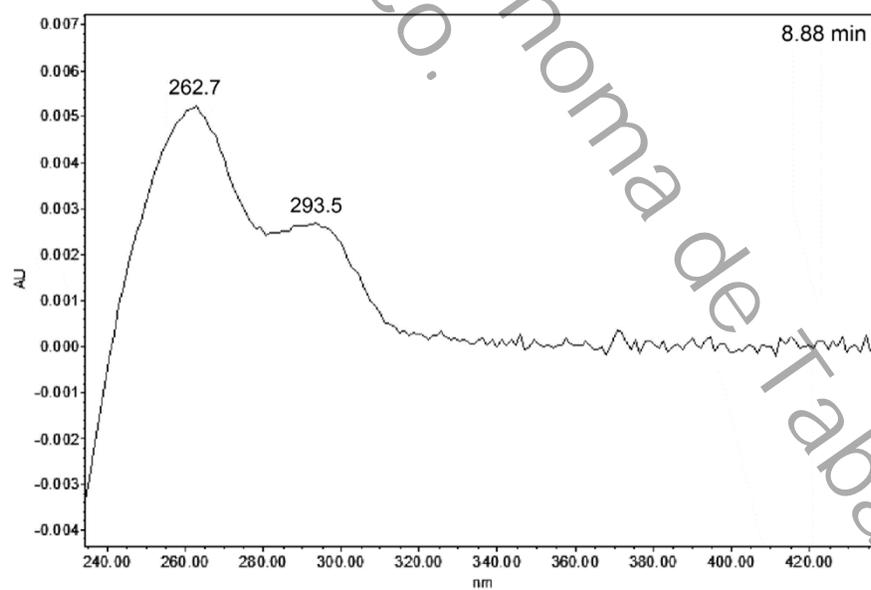
Espectro de absorción UV-Vis de pico 3



Nota. Pico detectado en CpC y Cp5

Figura C.4

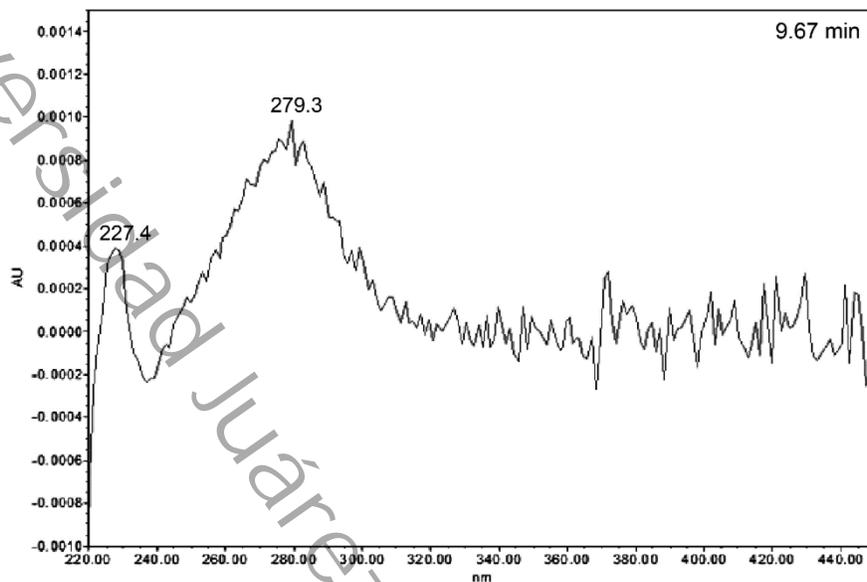
Espectro de absorción UV-Vis de pico 4



Nota. Pico detectado en Cp4

Figura C.5

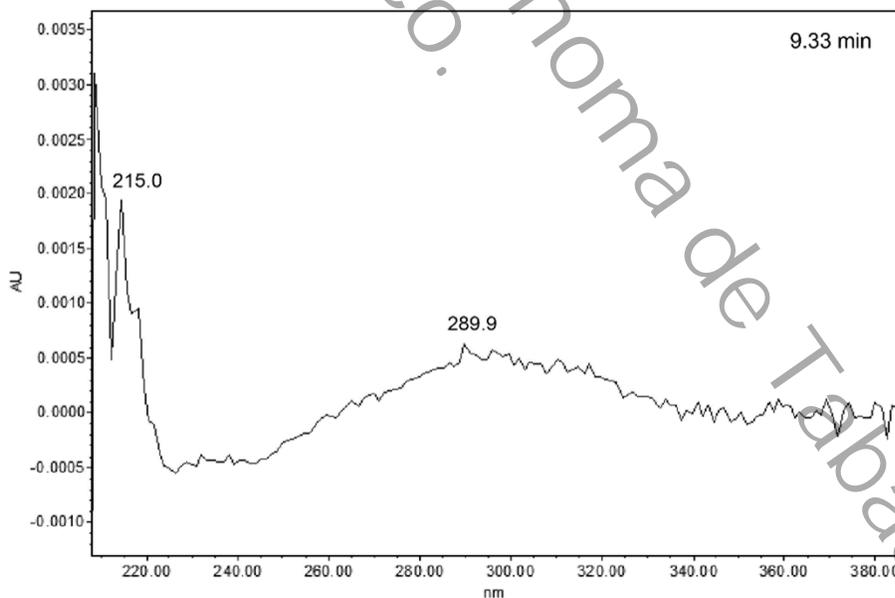
Espectro de absorción UV-Vis de pico 5



Nota. Pico detectado en Cp3

Figura C.6

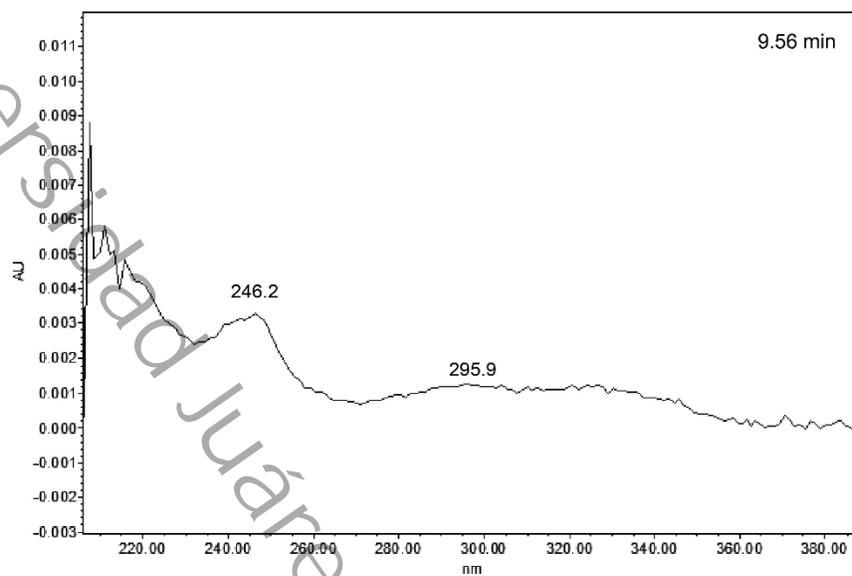
Espectro de absorción UV-Vis de pico 6



Nota. Pico detectado en Cp4

Figura C.7

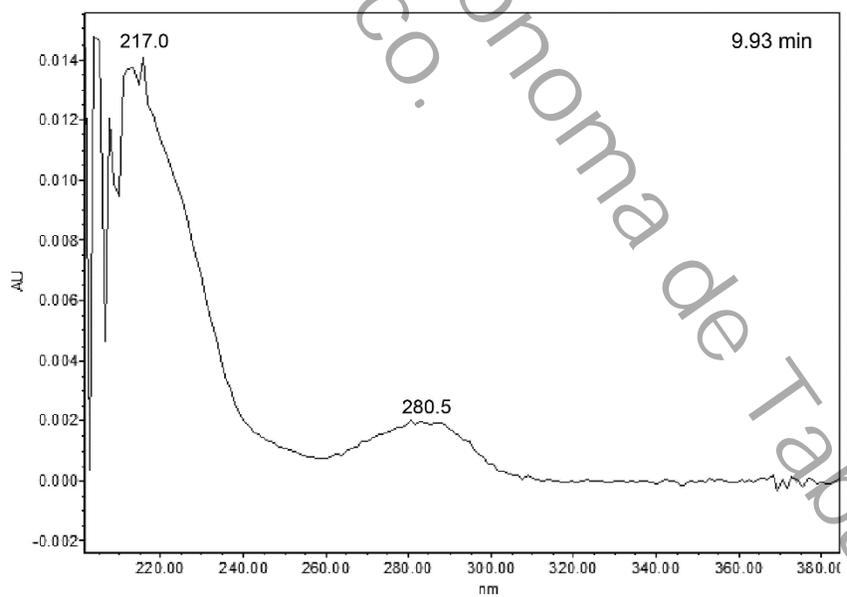
Espectro de absorción UV-Vis de pico 7



Nota. Pico detectado en Cp4

Figura C.8

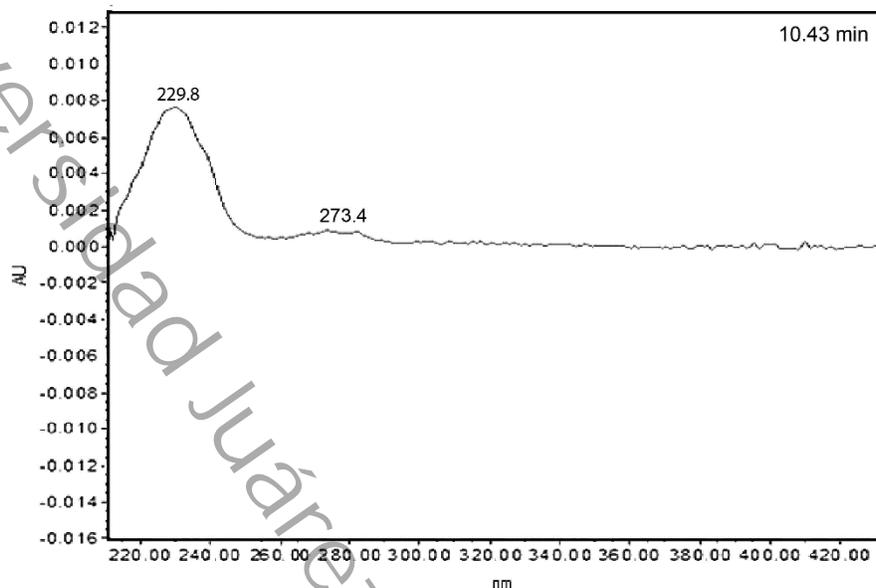
Espectro de absorción UV-Vis de pico 8



Nota. Pico detectado en Cp4

Figura C.9

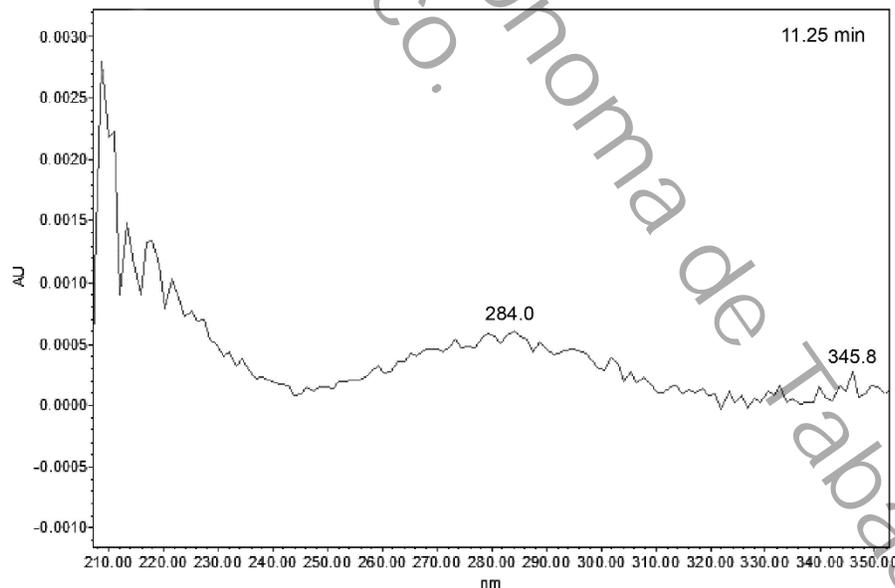
Espectro UV-Vis de pico 9



Nota. Pico detectado en CpC

Figura C.10

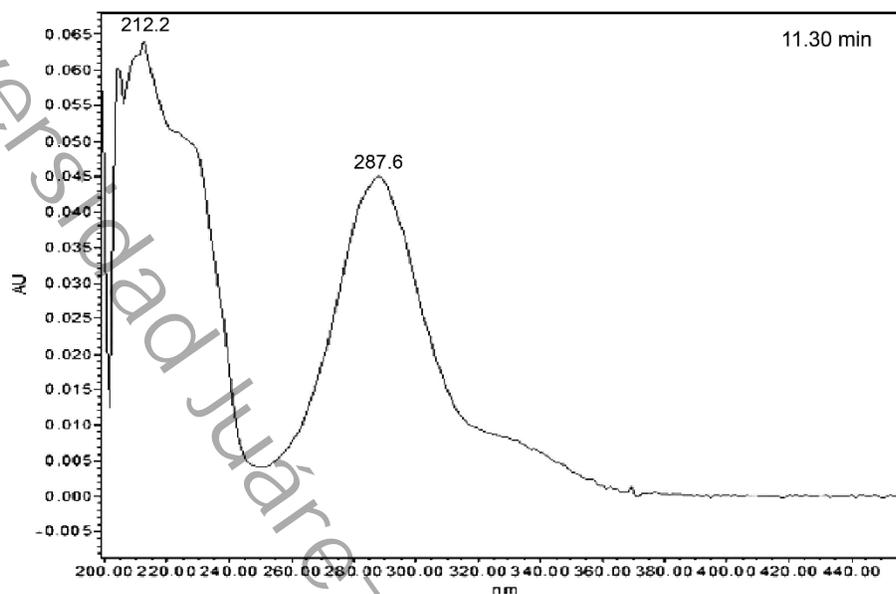
Espectro UV-Vis de pico 10



Nota. Pico detectado en Cp4

Figura C.11

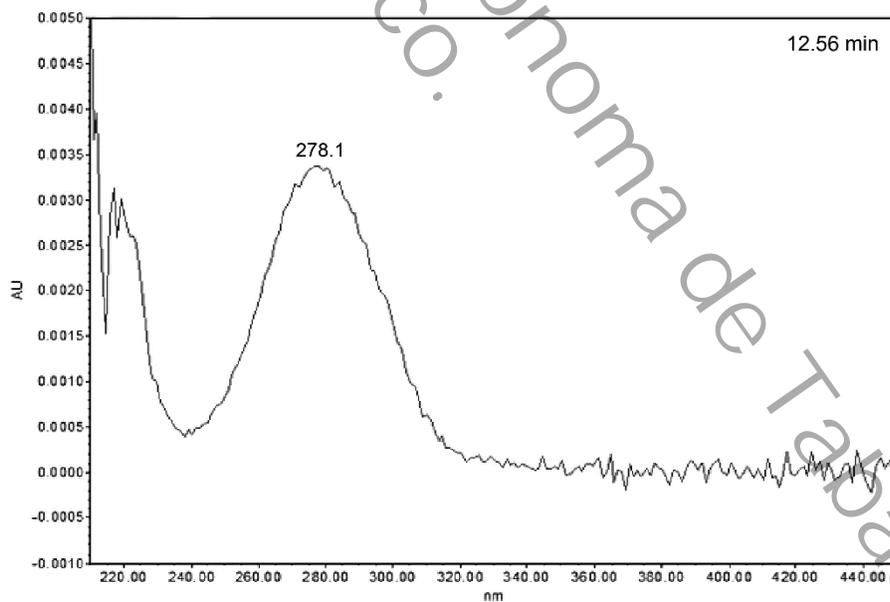
Espectro UV-Vis de pico 11



Nota. Pico detectado en Cp2

Figura C.12

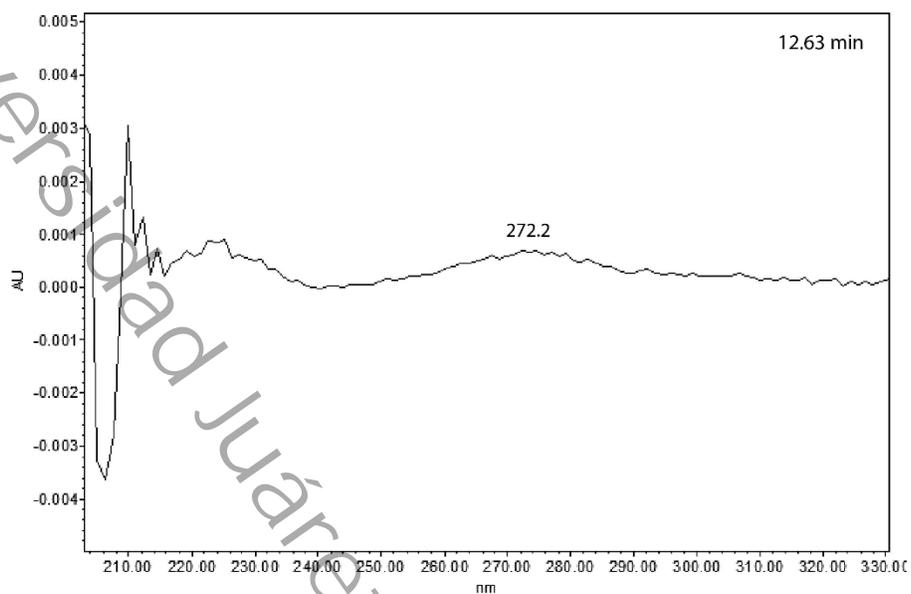
Espectro UV-Vis de pico 12



Nota. Pico detectado en Cp3

Figura C.13

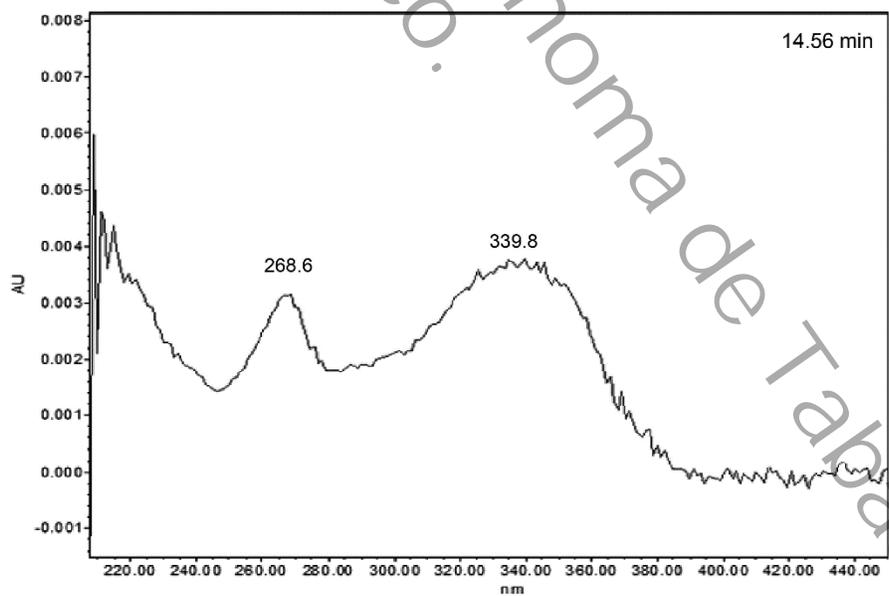
Espectro UV-Vis de pico 13



Nota. Pico detectado en Cp4

Figura C.14

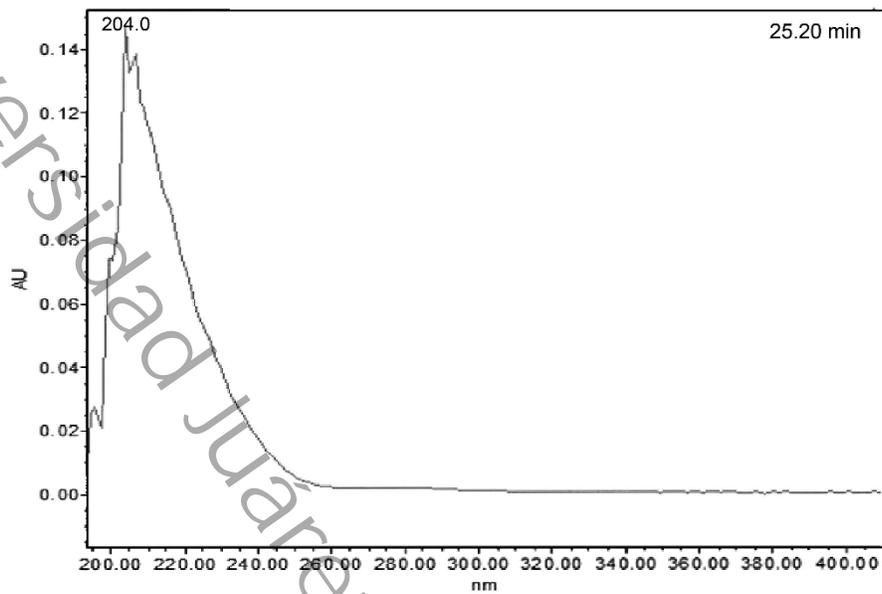
Espectro UV-Vis de pico 14



Nota. Pico detectado en Cp2

Figura C.15

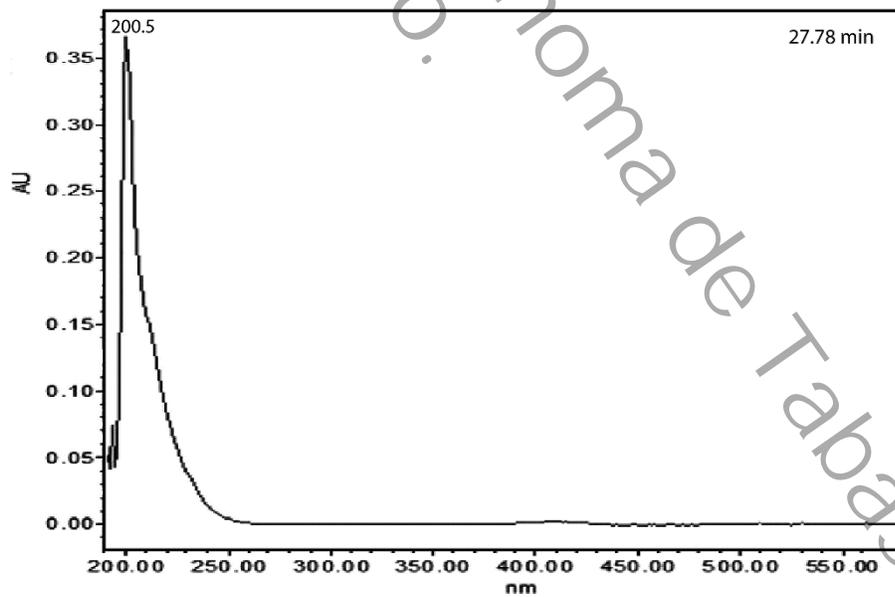
Espectro UV-Vis de pico 15



Nota. Pico detectado en CpC, Cp1 y Cp5

Figura C.16

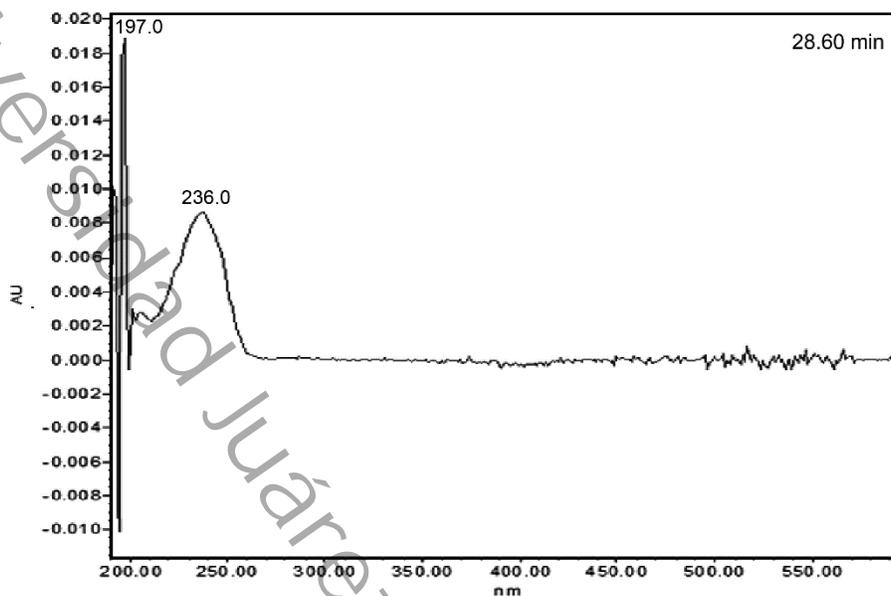
Espectro UV-Vis de pico 16



Nota. Pico detectado en CpC, Cp1 y Cp5

Figura C.17

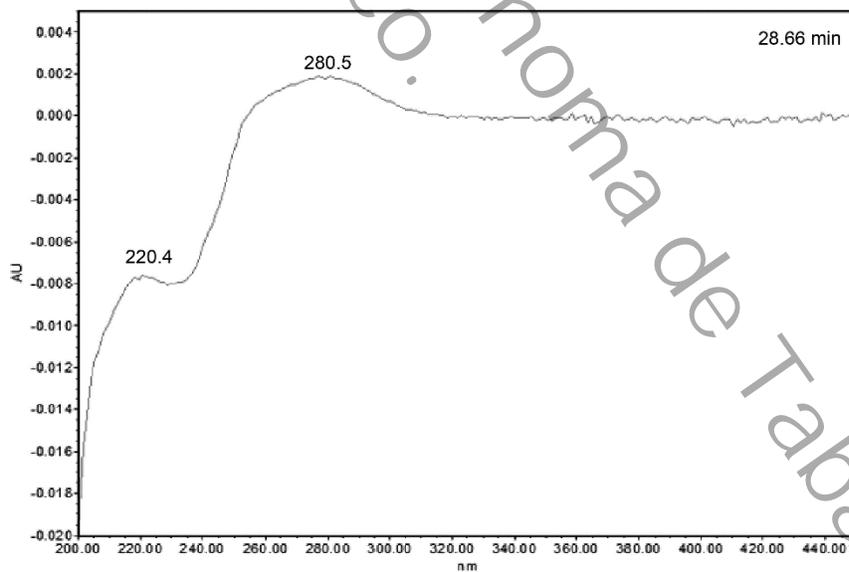
Espectro UV-Vis de pico 17



Nota. Pico detectado en Cp5

Figura C.18

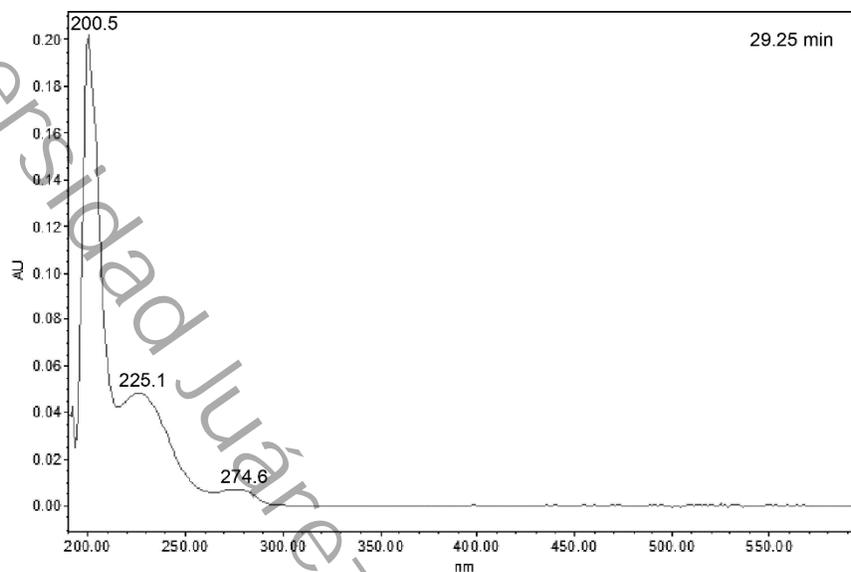
Espectro UV-Vis de pico 18 detectado en Cp3



Nota. Pico detectado en CpC, Cp1 y Cp5

Figura C.19

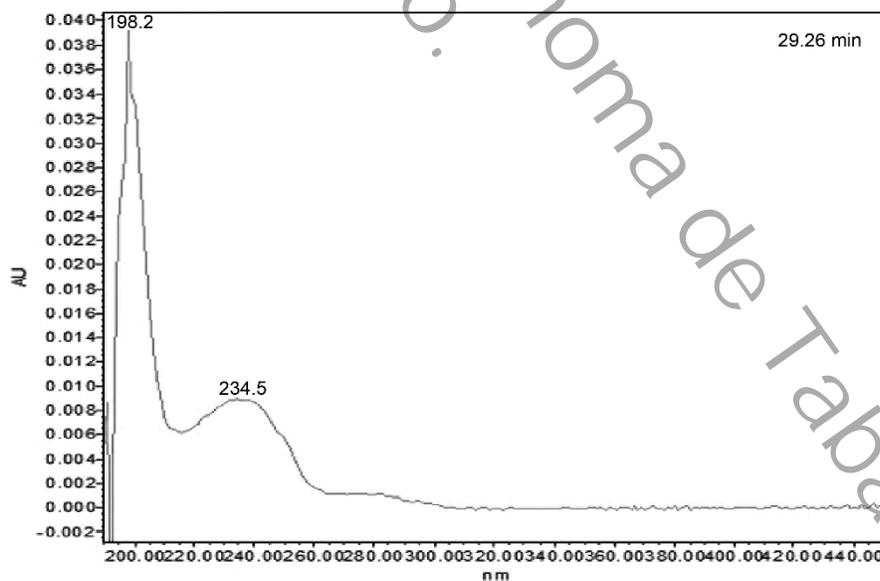
Espectro UV-Vis de pico 19 detectado en Cp4



Nota. Pico detectado en CpC, Cp1 y Cp5

Figura C.20

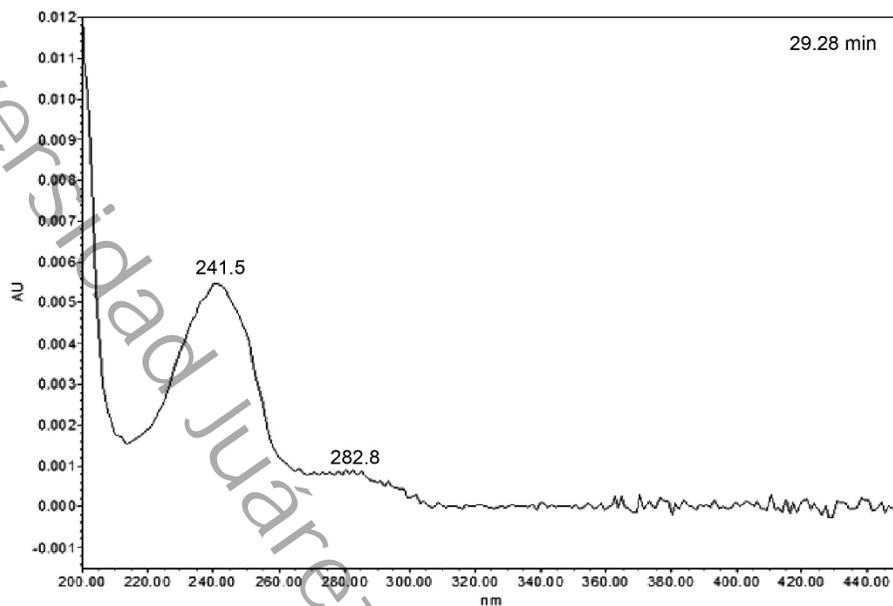
Espectro UV-Vis de pico 20



Nota. Pico detectado en Cp1 y Cp5

Figura C.21

Espectro UV-Vis de pico 21

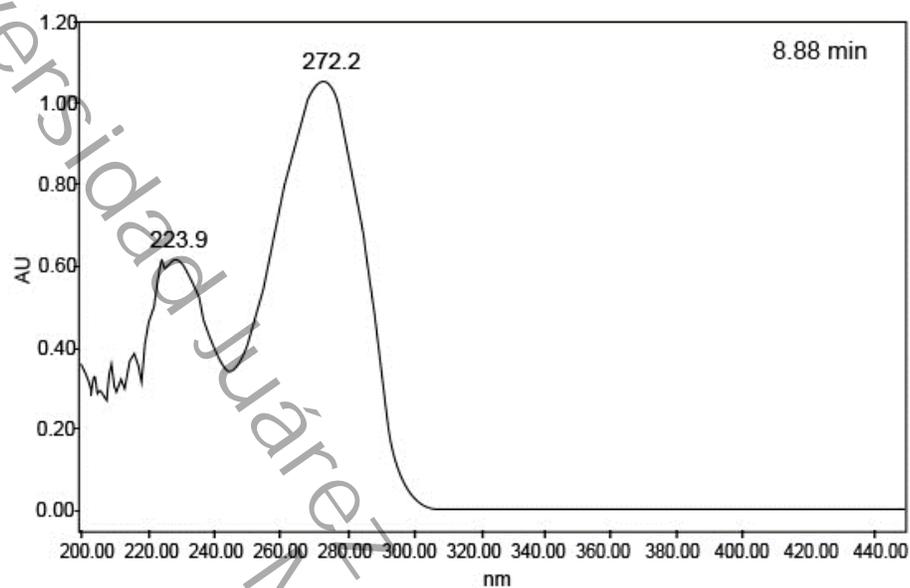


Nota. Pico detectado en Cp3 y Cp5

Anexo D. Espectros UV-Vis de estándares

Figura D.1

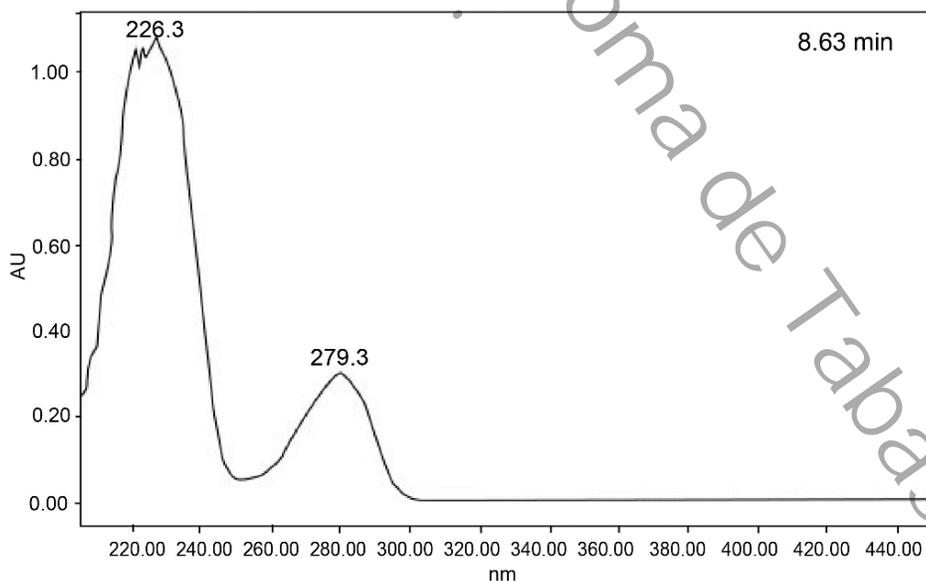
Espectro UV-Vis de estándar de cafeína



Nota. Pico de estándar procesado bajo las mismas condiciones experimentales que las fracciones.

Figura D.2

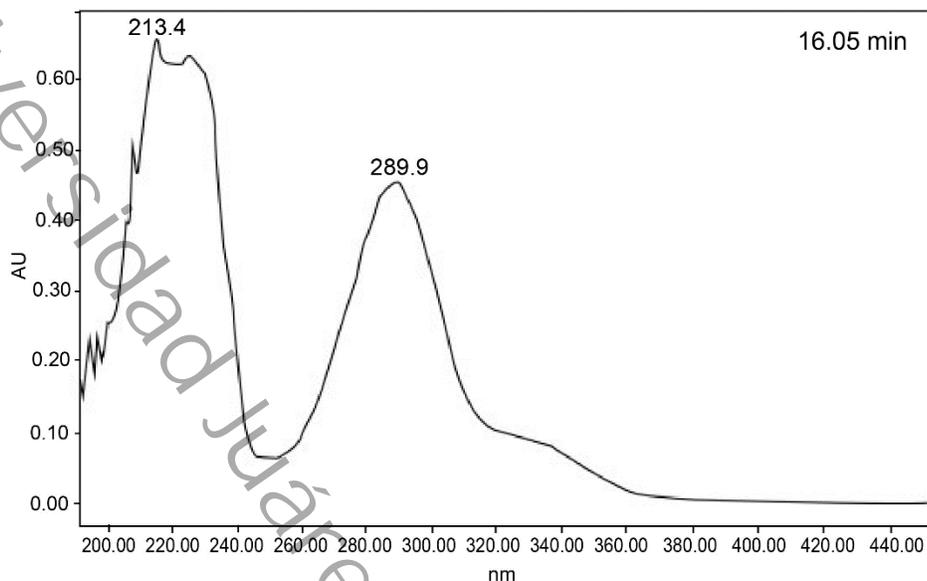
Espectro UV-Vis de estándar de catequina



Nota. Pico de estándar procesado bajo las mismas condiciones experimentales que las fracciones.

Figura D.3

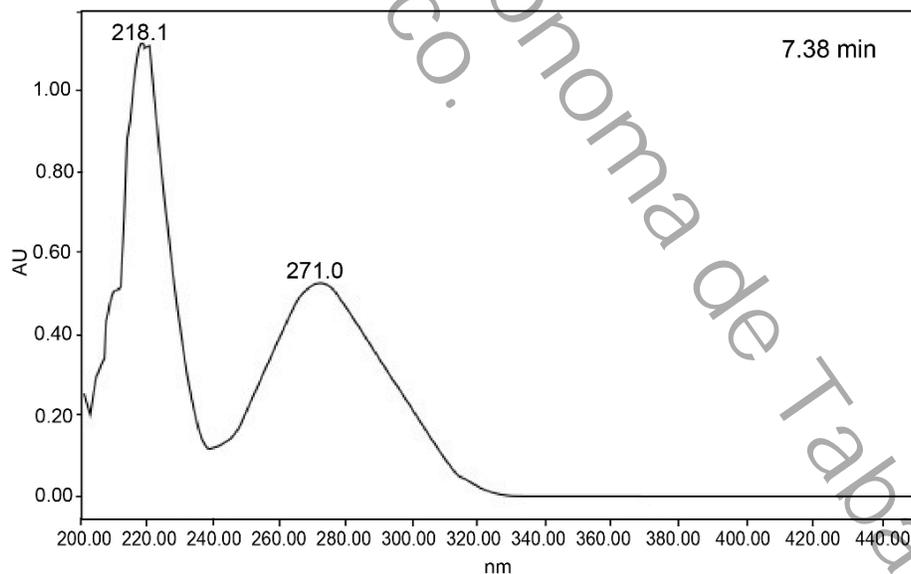
Espectro UV-Vis de estándar de naringenina



Nota. Pico de estándar procesado bajo las mismas condiciones experimentales que las fracciones.

Figura D.4

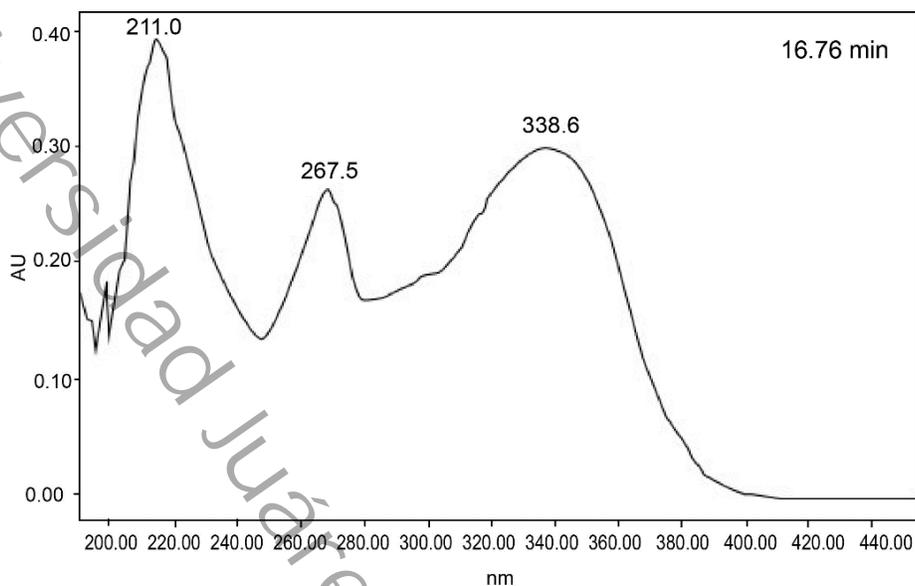
Espectro UV-Vis de estándar de ácido gálico



Nota. Pico de estándar procesado bajo las mismas condiciones experimentales que las fracciones.

Figura D.5

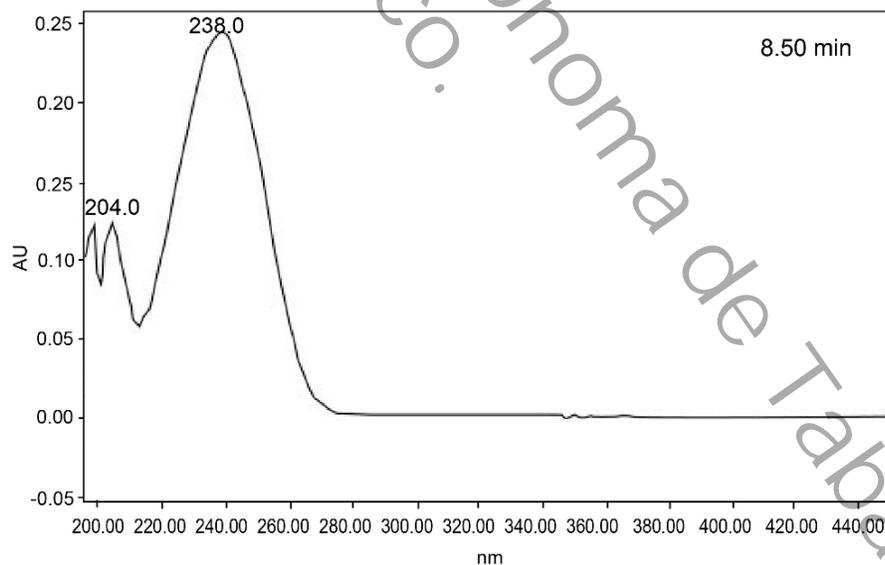
Espectro UV-Vis de estándar de apigenina



Nota. Pico de estándar procesado bajo las mismas condiciones experimentales que las fracciones.

Figura D.6

Espectro UV-Vis de estándar de genipósido



Nota. Pico de estándar procesado bajo las mismas condiciones experimentales que las fracciones.

Anexo E. Productos generados durante la maestría

Asistente al curso-taller "El Sistema Cardiovascular y sus Alteraciones desde un Enfoque Farmacológico", organizado por la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco en Villahermosa Tabasco del 22 al 27 de mayo de 2022.



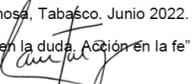
Otorgan la presente

Constancia

Dr. Juan Daniel Cruz Castillo

Por haber asistido al curso-taller "**El Sistema Cardiovascular y sus Alteraciones desde un Enfoque Farmacológico**", dirigido a los alumnos y profesores del programa académico de la **Maestría en Ciencias Biomédicas (SNP 5101)**, con una duración de 40 horas, realizado los días 22 al 27 de mayo del 2022.

Villahermosa, Tabasco, Junio 2022.
"Estudio en la duda, Acción en la fe"


Dra. Mirian Carolina Martínez López
Directora

Libro:14 Foja:26 Curso:93 Folio:118

Asistente al taller "Principios Básicos del Paquete Estadístico SPSS" impartido por el IMSS Tabasco en Villahermosa, Tabasco, el 9 de junio de 2022.



Otorga la presente

CONSTANCIA

a:

JUAN DANIEL CRUZ CASTILLO

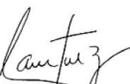
Por haber Participado en el Taller
"Principios básicos del paquete estadístico SPSS"
1er. Foro de Investigación en Salud
COVID-19: Espacio de Reflexión y Aprendizaje

Villahermosa, Tabasco, a 09 de Junio del 2022

ATENTAMENTE
"SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL"


Lic. en Enf. Rosa Herlinda Madrigal Miramontes
Titular del Órgano de Operación Administrativa Desconcentrada Estatal Tabasco


Dr. Marcos David Castillo Vázquez
Jefe del Servicio de Prestaciones Médicas


Dra. Mirian Carolina Martínez López
Directora de la DACS UJAT

Libro:14 Foja:28 Curso:100 Folio:170

Asistente al curso “Understanding Clinical Research: Behind the Statistics”, ofrecido por la University of Cape Town, en línea, el 22 de junio de 2022.



Presentación del trabajo titulado “Evaluación del efecto hipoglucemiante de los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico de la hoja de *C. papaya* en ratas diabéticas”, en el VII Congreso Internacional de Investigación en Ciencias de la Salud, que se llevará a cabo en Villahermosa, Tabasco, en septiembre de 2022.



Asistente al curso “Detección de productos naturales por RMN y metabolómica”, en el 3er Congreso Internacional de Química: Sustentabilidad Energética y Ambiental, en línea en diciembre de 2022.



Asistente al curso-taller “Introducción al análisis genético” organizado por la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, en línea, del 27 al 31 de marzo de 2023



Presentación del trabajo “Efecto hipoglucemiante de fracciones de un extracto orgánico de hojas de *Carica papaya*”, en el 18va Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, Morelia, Michoacán, en mayo de 2023.



Reconocimiento por el 3er lugar en el concurso de carteles con del trabajo “Efecto hipoglucemiante de fracciones de un extracto orgánico de hojas de *Carica papaya*”, en el 18va Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, Morelia, Michoacán, en mayo de 2023.



Presentación del trabajo “Evaluación fitoquímica y actividad hipoglucemiante de fracciones de un extracto de hojas de *C. papaya*”, en el LXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias fisiológicas, Puebla, Puebla, en septiembre de 2023.



Presentación del trabajo “Evaluación fitoquímica y actividad hipoglucemiante de fracciones de un extracto de hojas de *C. papaya*”, el 4to Congreso Internacional de Química: Sustentabilidad Energética y Ambiental, en línea en diciembre de 2023.

