

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Evaluación del efecto hipoglucemiante de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & Wilson (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth (Cordoncillo), utilizadas tradicionalmente para tratar la diabetes, en un modelo de ratones diabéticos CD-1 inducidos por estreptozotocina

Informe de Tesis

**Presentado por
José Agustín Aceituno Castro**

**Para optar al título de
Químico Farmacéutico**

Guatemala, 21 de Abril de 2021

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Evaluación del efecto hipoglucemiante de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & Wilson (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth (Cordoncillo), utilizadas tradicionalmente para tratar la diabetes, en un modelo de ratones diabéticos CD-1 inducidos por estreptozotocina

José Agustín Aceituno Castro
Químico Farmacéutico

Guatemala, 21 de Abril de 2021

JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Doctor Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal Primero
Dr. Roberto Enrique Flores Arzo	Vocal Segundo
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal Tercero
Br. Carmen Amalia Rodríguez Ortiz	Vocal Cuarto
Br. Paola Margarita Gaitán Valladares	Vocal Quinto
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria

DEDICATORIA**A MIS PADRES**

Por todo su amor, dedicación, apoyo y paciencia en todo momento, por creer en mí siempre y ayudar a convertirme en la persona que soy hoy en día.

**A MIS HERMANAS, HERMANO Y
TODA MI FAMILIA**

Por todo su apoyo y cariño en todo momento.

A MI NOVIA DIANA

Por apoyarme en los momentos difíciles y acompañarme en todo momento.

A MIS AMIGOS

Por todos los momentos de estrés, alegría y risas vividos durante la carrera.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Sobre todo, a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por haberme acogido en sus instalaciones y ofrecerme el privilegio de formarme como profesional.

AL BIOTERIO DE LA FACULTAD

Especialmente al Dr. Rodrigo Castañeda PhD., por todo su apoyo brindado y conocimiento compartido, por su amistad y ser un punto de inflexión en mi vida académica y un ejemplo a seguir.

AL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE PRODUCTOS NATURALES (LIPRONAT)

Por permitirme utilizar los extractos para realizar la investigación.

A MIS COMPAÑEROS DEL BIOTERIO

Diana, Caroline, David y César por todos los momentos de aprendizaje, alegría, estrés, peleas y lecciones aprendidas juntos. A pesar de todo siempre serán mi primer equipo de laboratorio de investigación.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	11
II. ANTECEDENTES.....	12
2.1 Diabetes Mellitus.....	12
2.1.1 Epidemiología.....	13
2.1.2 Fisiopatología	15
2.1.2.1 Daño oxidativo	15
2.1.2.2 Inflamación.....	16
2.1.2.3 Disfunción endotelial	16
2.1.3 Mecanismos de acción de fármacos utilizados en Diabetes Mellitus	18
2.1.3.1 Insulinas	18
2.1.3.2 Sulfonilureas.....	18
2.1.3.3 Análogos de meglitinida.....	18
2.1.3.4 Biguanidas	18
2.1.3.5 Tiazolidinedionas.....	19
2.1.3.6 Inhibidores de α -glucosidasa	19
2.1.3.7 Secuestradores de ácidos biliares	19
2.1.3.8 Análogos de amilina	19
2.1.3.9 Agonistas de receptores GLP-1	20
2.1.3.10 Inhibidores de DPP4.....	20
2.1.3.11 Inhibidores de SGLT2	20
2.1.4 Modelos de investigación.....	21
2.1.4.1 Diabetes Mellitus tipo 1 (DMT1)	21
2.2 Fitoterapia de Diabetes Mellitus	24
2.2.1 Especies vegetales y aspectos farmacognósticos.....	24
2.2.1.1 <i>Piper jacquemontianum</i> Kunth. (Cordoncillo).....	24
2.2.1.2 <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (Salvia sija)	25
2.2.2 Compuestos activos.....	25
2.2.3 Mecanismos de acción	27
2.2.4 Etnofarmacología	29
2.3 Descubrimiento de nuevas drogas.....	31
2.3.1 Insulinas.....	32
2.3.1.1 Análogos de acción prolongada	32
2.3.1.2 Análogos de acción rápida:	33
III. JUSTIFICACIÓN	36
IV. OBJETIVOS.....	38
4.1 Objetivo general	38
4.2 Objetivos específicos.....	38
V. HIPÓTESIS	39
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	40
6.1 Universo	40

6.2 Muestra	40
6.3 Materiales.....	40
6.3.1 Recursos humanos	40
6.3.2 Recursos materiales	40
6.3.3 Biológicos.....	40
6.3.4 Equipos	41
6.3.5 Reactivos.....	41
6.3.6 Cristalería.....	41
6.4 Métodos	42
VII. RESULTADOS.....	44
VIII.DISCUSIÓN	49
IX. CONCLUSIONES.....	53
X. RECOMENDACIONES.....	54
XI. REFERENCIAS	55

1. Lista de abreviaturas

1.	ACOX	Acilcoenzima peroxisomal A oxidasa
2.	ANG-II	Angioensina II
3.	ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
4.	ATP	Adenosina trifosfato
5.	DM	Diabetes Mellitus
6.	DPP4	Dipeptidil peptidasa - 4
7.	eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
8.	ET-1	Endotelina
9.	FAS	Proteína fas
10.	GIP	Polipéptido inhibidor gástrico
11.	GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
12.	GLUT	Transportador de glucosa
13.	IRS-1	Receptor de insulina tipo 1
14.	LDL	Lipoproteínas de baja densidad
15.	MPAK	Proteínas quinasas activadas por mitógeno
16.	MSPAS	Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
17.	NO	Óxido nítrico
18.	OMS	Organización Mundial de la Salud
19.	OPS	Organización Panamericana de la Salud
20.	PEC	Programa de Extensión de Cobertura
21.	PGI2	Prostaciclina
22.	PKA	Proteína quinasa A
23.	PKC β	Proteína C quinasa beta
24.	PPARs gamma	Receptor activado del factor proliferador del peroxisoma
25.	ROS	Especies reactivas de oxígeno
26.	SGLT2	Cotransportador de sodio-glucosa tipo 2
27.	SCD-1	Estearoil-CoA desaturasa
28.	SUR	Receptor de sulfonilurea
29.	VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

2. Lista de figuras

Figura 1.	Morbilidad de Diabetes Mellitus en Guatemala por cultura y año, del 2016 al 2019.	13
Figura 2.	Morbilidad de Diabetes Mellitus en Guatemala por año, del 2016 al 2019.	14
Figura 3.	Morbilidad por género de Diabetes Mellitus en Guatemala, del 2016 al 2019.	15
Figura 4.	Relación entre daño oxidativo y diabetes mellitus.	16
Figura 5.	Ejemplo de alteración de señalización celular y activación de C quinasa.	17
Figura 7.	Resumen de farmacología clínica en Diabetes Mellitus.	21
Figura 8.	Resumen y comparación de farmacología clínica de diabetes mellitus.	35

3. Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación de DM.	12
Tabla 2 Citoquinas circulatorias.....	16
Tabla 3. Acciones del GLP-1 en distintos órganos.	20
Tabla 4. Resumen de modelos de investigación de DMT1 en roedores.....	23
Tabla 5. Actividades evaluadas de <i>P. Jacquemontianum</i> , compuestos activos y parte utilizada.	24
Tabla 6. Actividades evaluadas de <i>L. alba</i> , compuestos activos y parte utilizada.	25
Tabla 7. Compuestos aislados con actividad evidenciada.	27
Tabla 8. Plantas más utilizadas para tratar diabetes.	29
Tabla 9. Plantas sin evidencia de propiedades antidiabéticas.....	30
Tabla 10. Nuevas drogas, tipos de tratamiento o diana en estudio para tratar la diabetes mellitus.	31
Tabla 11. Nuevos descubrimientos de análogos de insulina de acción rápida.....	34

I. RESUMEN

En las últimas décadas ha incrementado a nivel mundial las personas diagnosticadas con diabetes, sobre todo en países en vías de desarrollo. En Guatemala, la diversidad étnica presente en las comunidades rurales que tienen poco acceso a la salud tiende a utilizar plantas medicinales de uso tradicional como tratamiento alternativo o concomitante para diversas enfermedades. Sin embargo, muchas de las especies vegetales utilizadas carecen de estudios farmacológicos que respalden su uso. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto hipoglucemiante de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth. (Cordoncillo) en ratones macho CD-1. La diabetes fue inducida en ratones de ocho semanas de edad con estreptozotocina vía intraperitoneal (110 mg/kg), administrando diariamente extractos vía oral con diferentes dosis (50 y 100 mg/kg) por 60 días, luego de confirmar hiperglicemia. Los niveles de glucosa sanguínea fueron medidos el día 0, 30 y 60 de administración y los pesos se registraron diariamente. Se demostró que la administración de *L. alba* durante 30 y 60 días reduce significativamente ($P < 0.05$) los niveles de glucosa en sangre comparado con el grupo control diabético y *P. jacquemontianum* no mostró diferencia significativa en los niveles de glucosa. Por lo tanto, se demostró que las especies de uso tradicional en Guatemala como *L. alba*, pueden ser potenciales candidatos de tratamiento para la diabetes mellitus.

II. INTRODUCCIÓN

En 2014 aproximadamente 422 millones de adultos mayores de 18 años a nivel mundial vivían con diabetes según la Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial de la Salud, 2018). Éste número de personas ha aumentado definitivamente en los últimos años, sobre todo en países con menores ingresos y en vías de desarrollo. En el 2016 un estimado de 1.6 millones de muertes en el mundo fueron causadas directamente por la diabetes y 2.2 millones fueron atribuibles a la glucosa alta en sangre en el año 2012. Se estima que para el año 2035 el número de casos de diabetes en el mundo será de 592 millones (Giovannini et al., 2016).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), aproximadamente 62 millones de personas tienen diabetes en las Américas, y en Sudamérica y América Central (SACA) se proyecta un incremento de 60% para el 2035 con un promedio de prevalencia de 9.8% (Organización Panamericana de la Salud, 2019; Aschner et al., 2013). En las últimas décadas, Guatemala ha seguido las tendencias mundiales hacia el aumento de diabetes debido a los estilos de vida sedentarios, mayor urbanización y el impacto de los estilos de vida agrícolas tradicionales (Chary et al., 2012). Prueba de ello que en el 2013, se posicionó entre los cinco países con mayor prevalencia de diabetes en la región SACA con un 10.87 % (Aschner et al., 2013)

Guatemala tiene una amplia proporción de población indígena, siendo más de un 60 % de la población total y la mayoría de ella concentrada en las tierras altas al oeste del país. La disparidad que existe entre la población indígena y no indígena es evidente, teniendo una expectativa de vida con 13 años menos y teniendo 2.8 veces más menos recursos (Foster et al., 2015). Por ello datos derivados predominantemente de población urbana pueden no reflejar de manera precisa la diversidad nacional del país. Aunque el gobierno ha ampliado los servicios de salud para toda la población, las barreras persisten por diversas causas y las personas admiten que toman sus medicamentos de manera esporádica o que los consumen en combinación con tratamientos naturales (Andrews et al., 2018).

El tener un mayor conocimiento de las plantas medicinales es una vía para mejorar la calidad del tratamiento y la seguridad del paciente, así como para contribuir al descubrimiento de nuevas drogas y principios activos. El acceso a los medicamentos utilizados para tratar la diabetes es problemático, sobre todo en las zonas habitadas por población indígena por que son áreas con servicios básicos e infraestructura limitada (Martins, 2013). Sin embargo, en el país existe una gran cantidad de plantas medicinales nativas que se utilizan de manera tradicional pero que no poseen evidencia científica que respalde su uso. Es por ello que en el siguiente estudio se evaluaron 2 plantas nativas utilizadas tradicionalmente en Guatemala en un modelo *in vivo* de diabetes mellitus para determinar su relevancia en la patología.

III. ANTECEDENTES

3.1 Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por la hiperglicemia como consecuencia de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambas (American Diabetes Association, 2014). Varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la enfermedad, como la destrucción autoinmune de las células β del páncreas y el desarrollo de resistencia a la insulina.

La DM se clasifica principalmente en tipo 1, tipo 2, tipos específicos y diabetes gestacional (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de DM.

Clasificación	Descripción
Diabetes mellitus tipo 1 (DMT1)	Destrucción autoinmune de la célula β , ocasionando deficiencia absoluta de insulina y tendencia a la cetoacidosis.
Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)	Asociada a obesidad o incremento en grasa visceral, donde existe una resistencia a la insulina, acompañada de una deficiencia de la misma.
Otros tipos específicos	
Defectos genéticos de la función de célula β	Asociados a defectos monogénicos en la función de la célula β que se heredan en patrón autosómico dominante.
Defectos genéticos en la acción de la insulina	Causas inusuales asociadas con mutaciones en el receptor de insulina (resistencia a insulina tipo A, leprechaunismo, y otros).
Enfermedades del páncreas exocrino	Pancreatitis, trauma pancreático, pancreatectomía, neoplasia del páncreas, fibrosis quística, y otros.
Endocrinopatías	Acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma, hipertiroidismo, y otros.
Inducida por drogas o químicos	Fenitoína, diazóxido, tiazidas, agonistas beta adrenérgicos, pentamida, y otros.
Infecciones	Rubéola congénita, citomegalovirus, y otros.
Formas poco comunes de DM mediada inmunológicamente	Síndrome del hombre rígido, presencia de anticuerpos contra el receptor de insulina y acantosis.
Otros síndromes genéticos asociados	Síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome de Wolfram, porfiria, y otros.
Diabetes mellitus gestacional (DMG)	Intolerancia a la glucosa detectada por primera vez durante el embarazo.

3.1.1 Epidemiología

En la Figura 1 se observa que el grupo cultural con mayor morbilidad en los años 2016 al 2019 es el mestizo-ladino, aumentando aproximadamente más de 10,000 casos cada año y aproximándose a cien mil casos en el 2019. El otro grupo cultural con gran número de casos de morbilidad es el maya, aumentando aproximadamente 5,000 casos anualmente y superando los 30,000 casos en el 2019.

Sin embargo, en el caso del grupo cultural maya el número de casos puede no ser certero debido a la falta de acceso a salud que tiene dicho grupo. Ya que el informe del perfil de salud de los pueblos indígenas de Guatemala, elaborado por la OMS, OPS y el MSPAS, muestra que el nivel de reportes de episodios de enfermedades es más alto entre la población no indígena que entre la población indígena (27,4% contra 24,1% respectivamente) debido entre otros factores, a la inaccesibilidad a los servicios de salud, tanto por factores económicos como geográficos (Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud, 2016).

Además, se ha interrumpido el Programa de Extensión de Cobertura (PEC), que brindaba servicios básicos de salud a casi un tercio de la población, mayoritariamente rural e indígena. Otro factor importante es que casi tres cuartas partes del recurso humano en salud está concentrado en los departamentos de Guatemala, Quetzaltenango y Escuintla; al contrario, los departamentos de Totonicapán, Sololá, Baja y Alta Verapaz, y Quiché, con gran proporción de población maya, muestran indicadores pobres de salud.

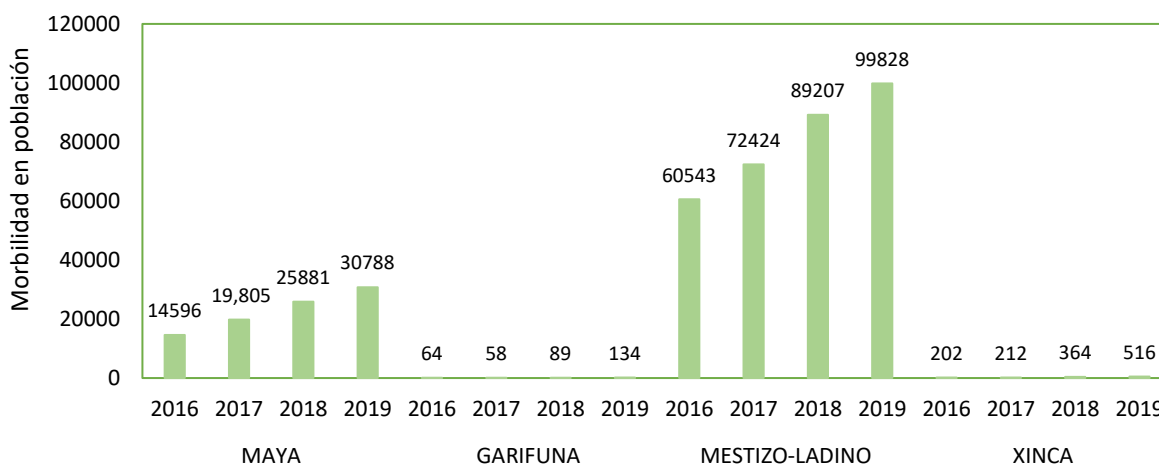


Figura 1. Morbilidad de Diabetes Mellitus en Guatemala por cultura y año, del 2016 al 2019.

En la Figura 2 se presentan los datos de morbilidad de Diabetes en el país durante los años 2016 al 2019, observándose un aumento anual continuo de aproximadamente 15,000 casos o un 109%. El aumento continuo de casos es un dato alarmante pero también lógico debido a la creciente urbanización del país, sobre todo en el departamento de Guatemala (Chary et al., 2012). Además,

es una consecuencia del sedentarismo en el área urbana y la erosión del estilo de vida agrícola tradicional.

Al realizar una sumatoria de los casos en los 4 años presentados, el resultado es igual a 455,330 casos. Esto quiere decir que casi medio millón de personas fue diagnosticada con algún tipo de diabetes en 4 años y si la tendencia de aumento persiste, se puede aproximar que al menos más de 600,000 personas serán diagnosticadas con diabetes mellitus entre 2020 y 2023.

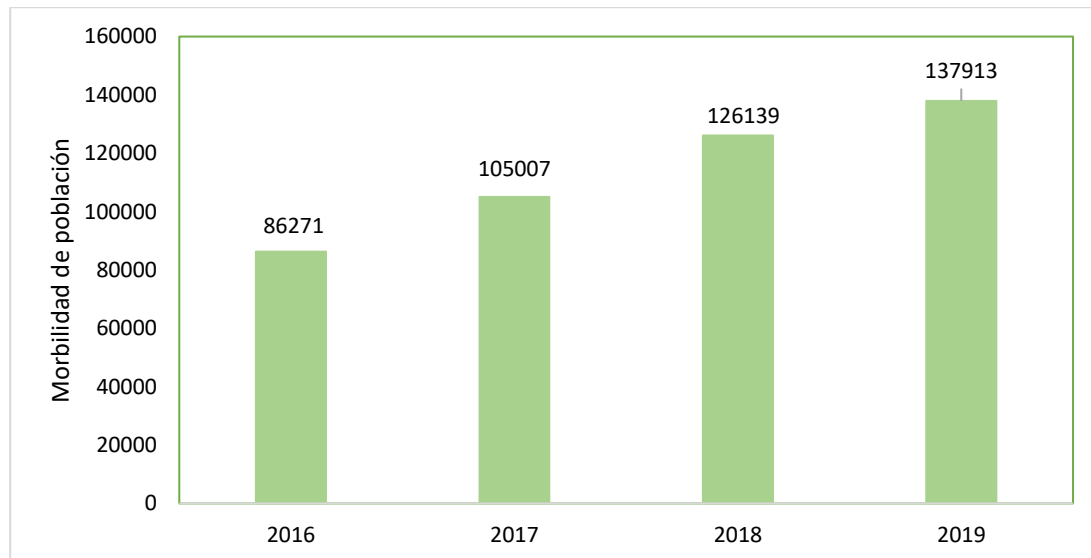


Figura 2. Morbilidad de Diabetes Mellitus en Guatemala por año, del 2016 al 2019.

La Figura 3 presenta la morbilidad según género y la diferencia es notable, siendo aproximadamente 3 veces más la cantidad de mujeres que padecen diabetes mellitus en comparación con los hombres. Esto coincide con la tendencia a que las mujeres asisten con mayor facilidad a la atención médica, siendo posible que el número de hombres no sea certero y hayan más casos no diagnosticados en hombres (Cruz & Andrade-Cetto, 2015).

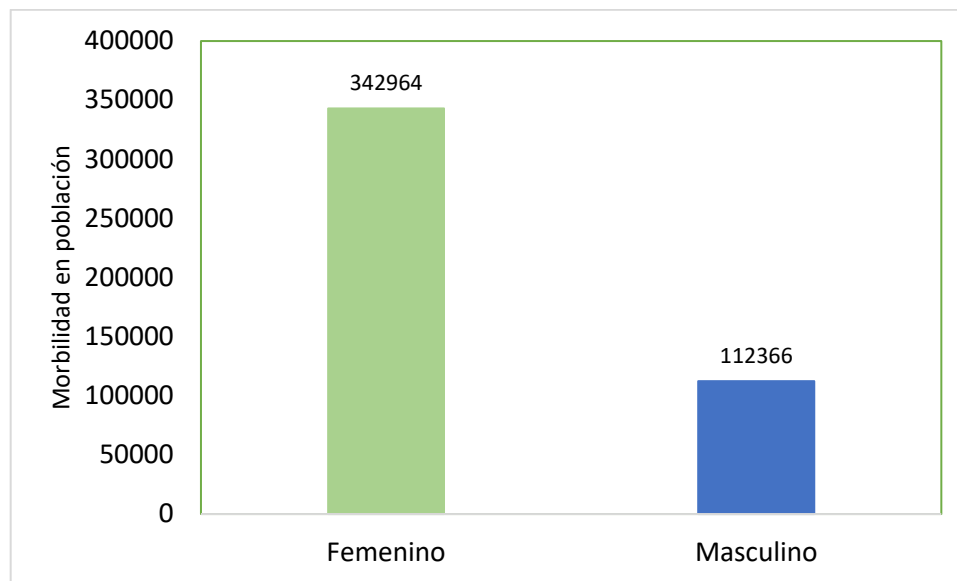


Figura 3. Morbilidad por género de Diabetes Mellitus en Guatemala, del 2016 al 2019.

3.1.2 Fisiopatología

El estrés oxidativo, la inflamación y la disfunción endotelial son tres componentes interrelacionados en la fisiopatología de la DM, así como en la enfermedad cardiovascular (Odegaard, et al., 2016). El estrés oxidativo es uno de los principales factores que conduce a la insulinoresistencia y disfunción de las células beta; la inflamación es un factor común entre la aterosclerosis, obesidad e insulinoresistencia; y la disfunción endotelial es producto de la hiperglicemia crónica que ocurre en la DM (Calle & Fernandez, 2012; Tangvarasittichai, 2015). A continuación, se describe cada uno de los tres procesos fisiopatológicos.

3.1.2.1 Daño oxidativo

El daño oxidativo ocurre a nivel molecular cuando aumenta la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS), causando daño celular debido a daño en macromoléculas como las proteínas, lípidos, carbohidratos y ácido desoxiribonucleico (ADN) (Tangvarasittichai, 2015). El daño oxidativo ha sido relacionado a la patogénesis de la insulinoresistencia por medio de inhibición de la misma y una desregulación de citoquinas.

La hiperglicemia característica de la diabetes mellitus incrementa la producción de NADH y FADH₂; además, conduce a la auto-oxidación de la glucosa que termina en la formación de enediol (Calderón, Muñoz, & Quintanar, 2013). Dicho proceso ocurre cuando hay una mayor concentración de glucosa en la célula. El enediol produce 1,4-dideoxiglucosona-proteína por medio de una reacción con oxígeno en presencia de metales de transición, resultando en una proteína glicada. Dicha proteína tiene capacidad de generar una oxidación en cadena que dará lugar a los llamados productos de glicación avanzada (AGE). Todo esto en conjunto produce la formación de radicales libres (ROS). Favoreciendo así el daño oxidativo en la célula.

La hiperglicemia también genera el incremento de la vía de polioles, que produce sorbitol a partir de la reducción de la glucosa (Figura 4). Dicha reducción de sorbitol se logra mediante la oxidación

de NADPH + H⁺, reacción que genera H₂O₂. Incluso si la concentración de sorbitol es muy alta, se reduce a fructosa, generando la especie reactiva de oxígeno O₂⁻, produciendo un círculo vicioso que produce más H₂O₂ y O₂⁻ (Calderón, Muñoz, & Quintanar, 2013). Este proceso se lleva a cabo por una enzima a Aldo reductasa.

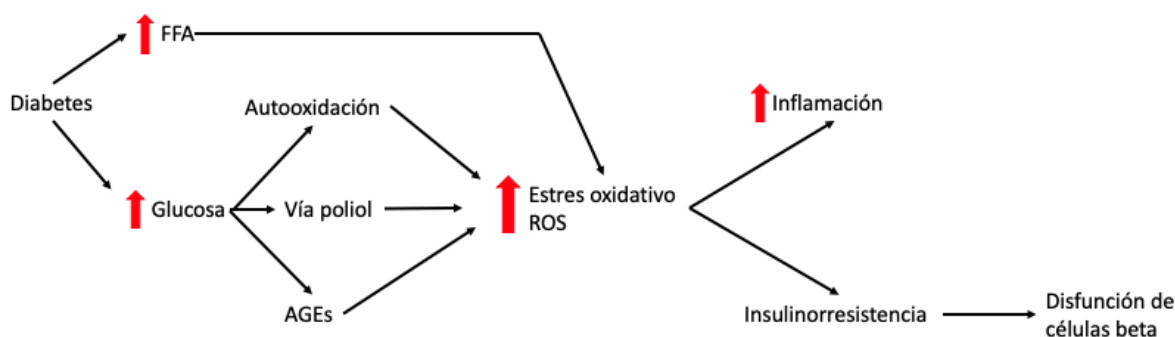


Figura 4. Relación entre daño oxidativo y diabetes mellitus.

3.1.2.2 Inflamación

La inflamación es una característica común en los sujetos con diabetes mellitus tipo 2, que resulta en una gran concentración de citoquinas circulatorias (Calle & Fernandez, 2012). Estas citoquinas circulatorias son producidas por diferentes tipos de células y regulan diferentes tejidos en la circulación a través de sus acciones locales, centrales y periféricas. Algunas citoquinas son el factor de necrosis tumoral (TNF- α), Interleucina 6 (IL-6) y la proteína C reactiva (PCR) (Tabla 2).

Tabla 2 Citoquinas circulatorias

Citoquina	Descripción
TNF- α	Producida por el tejido adiposo y secretada por macrófagos y otras células. Además, a altas concentraciones promueve la síntesis de IL-8, favoreciendo el proceso aterosclerótico. También se relaciona a la obesidad y la insulinoresistencia.
IL-6	Sus concentraciones se incrementan con el TNF- α y favorece los mismos procesos que la IL-8.
PCR	Producida en el hígado y sus altas concentraciones se relacionan a la enfermedad coronaria, obesidad, diabetes y estilo de vida sedentario. Su producción se incrementa con TNF- α e IL-6.

3.1.2.3 Disfunción endotelial

El endotelio vascular es la capa más interna de los vasos sanguíneos, formando una barrera entre la sangre y el resto de la pared vascular (van den Oever, Raterman, Nurmohamed, & Simsek, 2010). Dicha capa es muy importante para la homeostasis vascular, el tono vascular, la permeabilidad, el balance entre coagulación y fibrinólisis, la actividad inflamatoria y la proliferación celular. Su disfunción se considera como un factor importante en la patogenia de la enfermedad vascular en DM.

Bajo circunstancias fisiológicas existe un balance entre los factores relajantes liberados del endotelio, como el óxido nítrico (NO) y la prostaciclina (PGI₂), y factores de contracción, como la endotelina-1 (ET-1), prostaglandinas y angiotensina II (ANG-II) (van den Oever et al, 2010). En la disfunción endotelial no se encuentra dicho balance, por lo cual hay una pérdida de NO biodisponible y una producción aumentada de factores de contracción y alteración de la inflamación, trombosis y crecimiento celular (Tabit, Chung, Hamburg, & Vita, 2010).

Existen varios mecanismos que asocian la disfunción endotelial con diabetes mellitus e insulinoresistencia, entre los cuales están:

- 1) Alteración de señalización celular en células endoteliales: principalmente aquellas vías que conducen a la activación de óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) (Figura 4) (van den Oever et al, 2010). Además la insulina activa las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPK) a través de la GTPasa Ras, conduciendo en las células endoteliales a la expresión de endotelina-1, un potente vasoconstrictor y mitógeno, y moléculas de adhesión proinflamatoria como ICAM-1.
- 2) Activación de proteína C quinasa beta (PKC β): se activa mediante diacilglicerol bajo aumento de concentraciones de glucosa y ácidos grasos, inhibiendo así la PI3K/Akt y reduciendo la fosforilación de eNOS. También activa la NF κ B que produce el mismo efecto (Figura 5).

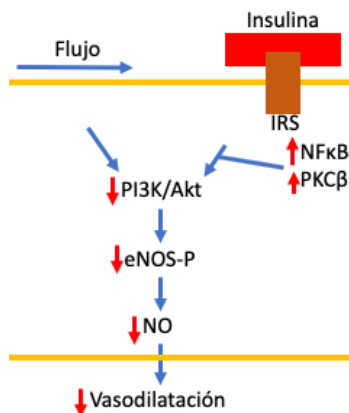


Figura 5. Ejemplo de alteración de señalización celular y activación de C quinasa.

- 3) Aumento de estrés oxidativo: la exposición del tejido arterial a altas concentraciones de glucosa o ácidos grasos libres induce la producción de superóxidos y altera la biodisponibilidad de NO en varias maneras así como la capacidad de respuesta de sus diana (Figura 6).

3.1.3 Mecanismos de acción de fármacos utilizados en Diabetes Mellitus.

El objetivo del tratamiento de la DM es principalmente aliviar los síntomas, mejorar la calidad de vida y la prevenir complicaciones agudas y crónicas. Es importante mencionar que el tratamiento para la DM no es únicamente farmacológico, también se acompaña de medidas dietéticas y de actividad física.

3.1.3.1 Insulinas

La insulina es el medicamento más destacado para tratar DM1 y DM2, pues resuelve el déficit insulínico encontrado en la DM1 y la insuficiencia de secreción en DM2 por medio de administración exógena (Feliciano y Sierra, 2008).

3.1.3.2 Sulfonilureas

Actúan en el páncreas aumentando la liberación de insulina a través de un canal de potasio ATP dependiente (SUR-1) y también pueden disminuir la resistencia periférica a la insulina (Santa Cruz y Castillo, 2002). Al unirse al receptor inhiben el flujo de potasio y se produce una despolarización de membrana. Por ende, los canales de calcio dependientes de voltaje se abren para que el ión calcio ingrese, activando así las cinasas y causando una exocitosis de gránulos contenedores de insulina.

3.1.3.3 Análogos de meglitinida

También estimulan la secreción de insulina por inhibición de los canales SUR-1, variando con las sulfonilureas en la región que se unen, aunque la repaglinida es más afin al SUR-2 (Brunton, Chabner, y Knollmann, 2012).

Estos fármacos restauran la primera fase de secreción de insulina, disminuyendo la glucosa postprandial sin un pico hiperglicémico entre comidas (Santa Cruz y Castillo, 2002). Esto es muy importante debido a que la demanda de insulina es mayor con las comidas y la captación de glucosa por insulina ocurre principalmente en el estado postprandial.

3.1.3.4 Biguanidas

A nivel gastrointestinal producen una reducción en absorción de glucosa, inhibición de gluconeogénesis y estimula la captación celular de glucosa y la unión insulina-receptor (Santa Cruz y Castillo, 2002). A nivel hepático, disminuye la producción de glucosa, mejora la tolerancia a glucosa oral e incrementa la captación de glucosa en tejido muscular, estimulando la síntesis de glucógeno.

También incrementan la actividad de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK), aumentan concentración de GLUT1 y GLUT4 en varios tejidos, y reduce los niveles de colesterol LDL, triglicéridos VLDL (Brunton et al, 2012).

Este mecanismo ha sido cuestionado recientemente por experimentos que proponen que la metformina conduce a la acumulación de AMP y nucleótidos relacionados, que inhiben la adenilato

ciclase, reducen los niveles de actividad cíclica de AMP y proteína quinasa A (PKA) (Miller et al, 2013). Anulando la fosforilación de objetivos proteicos críticos de PKA y bloquean la producción de glucosa dependiente de glucagón de hepatocitos.

3.1.3.5 Tiazolidinedionas

Aumentan la sensibilidad a la insulina, sin afectar su secreción, uniéndose al receptor activado del factor proliferador del peroxisoma (PPARs gamma) (Santa Cruz y Castillo, 2002). Afectando los factores de transcripción que influyen en la expresión de genes para la producción de proteínas en el metabolismo de carbohidratos y lipoproteínas.

Esto produce un aumento en el número de transportadores de glucosa GLUT-1 y GLUT-4, principalmente en el músculo esquelético, tejido adiposo e hígado.

3.1.3.6 Inhibidores de α -glucosidasa

Reducen la absorción de carbohidratos a nivel intestinal después de una comida, disminuyendo la hiperglicemia postprandial y retrasando la digestión de carbohidratos (Santa Cruz y Castillo, 2002). Produciendo un retraso en la entrada de glucosa a la circulación sistémica y así permitir que el tiempo de la célula beta para aumentar la secreción de insulina en respuesta al pico de glucosa plasmática aumente (Lebovitz, 1997).

3.1.3.7 Secuestradores de ácidos biliares

En este grupo encontramos al colesevelam, colestipol y colestiramina, que actúan a través de la unión a los ácidos biliares e impidiendo su reabsorción (Steinmetz, 2002). De esa manera provocan la transformación del colesterol hepático en ácidos biliares y el aumento de expresión y actividad de receptores LDL.

Existe evidencia de que el colesevelam tiene un efecto hipoglucémico mediante un mecanismo de acción aún no dilucidado (Fonseca, Rosenstock, Wang, Truitt, & Jones, 2009). Actualmente se cree que su unión a los ácidos biliares resulta en la activación de TGR5, un receptor asociado a proteínas G que promueve la secreción de GLP-1 u otras incretinas que promueven la secreción de insulina e inhiben la de glucagón (Nwose & Jones, 2013).

3.1.3.8 Análogos de amilina

La amilina es un polipéptido del islote que se almacena junto a la insulina en las células beta pancreáticas y su liberación es causada por la ingesta de alimentos, liberación de glucagón, GLP-1 y agonistas colinérgicos (Rojas y Novials, 2001).

Por lo tanto, los análogos de amilina tienen efectos similares a los agonistas de GLP-1, diferenciándose en que no potencian la liberación de insulina (Feliciano y Sierra, 2008). Pero disminuyen la ingesta de alimentos a nivel central y evitando la producción hepática de glucosa.

3.1.3.9 Agonistas de receptores GLP-1

El GLP-1 es un péptido intestinal que potencia la secreción de insulina y esa propiedad se conoce como efecto incretina (Feliciano y Sierra, 2008). Además de tener un efecto sobre la insulina, tiene otros efectos en diversos órganos (Tabla 3).

Tabla 3. Acciones del GLP-1 en distintos órganos.

Órgano	Acción
	Aumento de secreción de insulina tras ingerir alimento.
Páncreas	Inhibición de secreción de glucagón. Aumento de proliferación y prevención de apoptosis en células beta
Hígado	Disminuye la producción hepática de glucosa
Estómago	Disminución del vaciamiento gástrico.
Cerebro	Disminución del apetito.

3.1.3.10 Inhibidores de DPP4

La dipeptidil peptidasa-4 es una enzima ampliamente distribuida en el organismo, capaz de desactivar al GLP-1 y GIP, por lo tanto sus inhibidores prolongan la vida media de esas hormonas incretínicas (Feliciano y Sierra, 2008). De forma que la respuesta pancreática a la ingesta es de una mayor secreción de insulina y una reducción del glucagón postprandial (Pedrianes y de Pablos, 2010).

Entre los inhibidores de DPP4 encontramos a la sitagliptina, saxagliptina y vildagliptina, éstos no tienen efecto en retardar el vaciamiento gástrico ni disminuir el peso.

3.1.3.11 Inhibidores de SGLT2

El primer paso en la reabsorción de la glucosa de la orina implica el transporte de glucosa desde los túbulos a los capilares peritubulares a través de las células epiteliales tubulares (Pérez, González, y Cano, 2010). Esto se logra con la familia de cotransportadores sodio-glucosa (SGLT).

En los pacientes con DM2, la expresión de SGLT2 está aumentada en las células epiteliales del túbulo contorneado proximal, lo que conlleva una mayor reabsorción renal de glucosa, con efectos adversos, dado que contribuye a mantener la hiperglucemia (Escalada y Salvador, 2010). Por ende, la supresión de su actividad inhibe la reabsorción renal de glucosa, aumenta su excreción renal y reduce la hiperglucemia.

El SGLT 1 es el transportador clave de la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal pero representa un 10 % de la reabsorción de glucosa. Al contrario, SGLT 2 es un transportador de gran capacidad y de baja afinidad, encontrándose principalmente en el riñón.

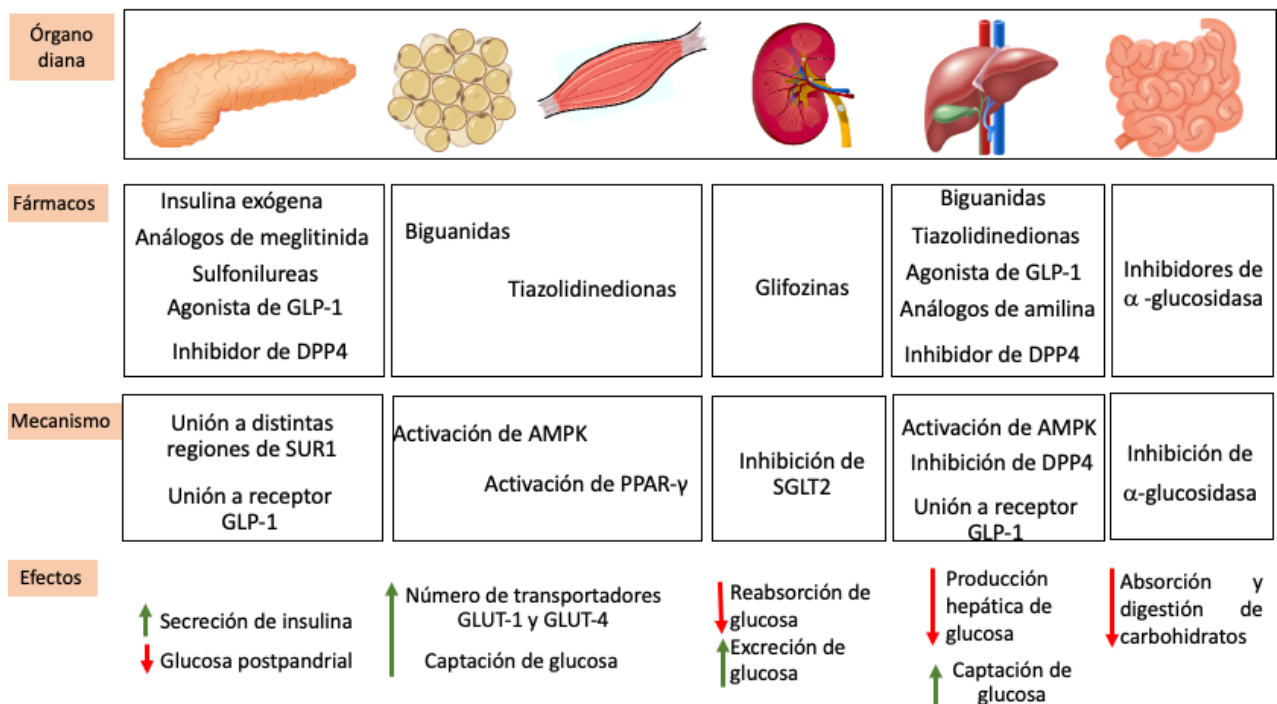


Figura 6. Resumen de farmacología clínica en Diabetes Mellitus.

3.1.4 Modelos de investigación

Como desórdenes endocrinos metabólicos, la DMT1 y DMT2 representan enfermedades complejas con distintos sistemas involucrados, por ello se han desarrollado modelos de investigación *in vivo* que se emplean según el aspecto de la patología que se desea estudiar. Los modelos de investigación *in vivo* forman una parte muy importante en el estudio y comprensión de la DM y a continuación se describe el modelo a utilizar en el experimento y un breve resumen de otros modelos utilizados en DMT1 (Tabla 3).

3.1.4.1 Diabetes Mellitus tipo 1 (DMT1)

La característica principal de la DMT1 es que la destrucción autoinmune de las células pancreáticas β provoca la carencia de producción de insulina. En los modelos animales, dicha carencia se logra mediante diferentes mecanismos, desde la inducción química hasta la reproducción de roedores que desarrollan espontáneamente diabetes autoinmune (Tabla 4). Sin embargo, a continuación se describirá el modelo que se realizara en la investigación.

3.1.4.1.1 Inducción química

En estos modelos se destruye un porcentaje alto de células beta y por ende, hay una poca producción de insulina y esto produce la hiperglucemia y pérdida de peso (Dufrane et al, 2006). Los compuestos utilizados para el modelo son la estreptozotocina (STZ) o el aloxano debido a su similitud estructural con la glucosa.

Se recomienda utilizar el modelo para probar drogas o terapias donde el mecanismo principal es la disminución de glucosa en sangre de manera no célula β dependiente; también para evaluar terapias de transplantación (Jederstrom, Grasjo, Nordin, Sjöholm, & Andersson, 2005; Deeds et al, 2011).

La desventaja del modelo es que tanto la STZ como el aloxano son tóxicos para los órganos como el hígado, riñón, pulmón, intestinos y cerebro (Lee, Yang, Oh, & Lee, 2010). Sin embargo, se puede extraer riñones y páncreas para análisis histológico.

- Estreptozotocina:

Su mecanismo se basa en ingresar a las células beta a través del GLUT2, causar la alquilación del ADN y la activación del PARP que conduce al agotamiento de NAD⁺, reducción de ATP e inhibición de producción de insulina (Szkudelski, 2001). Este se administra tanto como una dosis alta o como múltiples dosis bajas.

La única dosis en ratones varía de 100 a 200 mg/Kg, según la cepa y características (Dekel, Glucksam, Elron-Gross, & Margalit, 2009). Además, existe evidencia de que puede ocurrir regeneración espontánea de los islotes pancreáticos y por lo tanto se debe verificar que la mejora en niveles de glucosa no se deba a ello. En cambio, las múltiples dosis bajas se realizan durante 5 días y las dosis varían de 20 a 40 mg/kg por día (Lukic, Stosic-Grujicic, & Shahin, 1998).

Actualmente, también se administra nicotinamida (NAD) en dosis de 230 mg/Kg 15 minutos antes de administrar STZ, con el fin de obtener una hiperglucemia estable y uniforme (Ghasemi, Khalifi, & Jedi, 2014).

- Aloxano:

Su efecto diabético se atribuye a la formación de radicales libres a los que las células beta pancreáticas tienen mecanismos de defensa muy pobres (Szkudelski, 2001).

Además, el aloxano se reduce a ácido dialúrico y luego se vuelve a oxidar a aloxano, creando un ciclo redox para la generación de radicales superóxido que sufren una mutación para formar peróxido de hidrógeno y, posteriormente, radicales hidroxilo altamente reactivos que causan fragmentación del ADN de las células beta. Las dosis en ratones varían de 50 a 200 mg/Kg y en ratas de 40 a 200 mg/Kg.

Tabla 4. Resumen de modelos de investigación de DMT1 en roedores.

Mecanismo de inducción	Modelo	Características principales	Usos posibles	Referencia
Inducción química	Altas dosis de STZ		Nuevas formulaciones de insulina	(Jederstrom et al, 2005;
	Aloxano	Modelo simple de hiperglicemia	Modelos de transplatación	Deeds et al, 2011)
	Dosis bajas múltiples de STZ		Tratamiento que prevengan muerte de células β	
Desarrollo autoinmune espontáneo	Ratones NOD		Comprender genética de DMT1	
	Ratas BB	Destrucción de células β por proceso autoinmune	Comprender mecanismo de DMT1	(Yang & Santamaria, 2006)
Inducido genéticamente	Ratas LEW.1AR1/-iddm		preventivo de muerte celular o que manipule proceso autoinmune	
	AKITA mice	Destrucción de células β por estrés del retículo endoplásmico. Insulino dependiente.	Nuevas formulaciones de insulina	(Chen et al, 2011; Al-War et al, 2016)
			Modelos de transplatación	
Inducida de manera viral	Virus Coxsackie B		Tratamientos para prevenir estrés del retículo endoplásmico	
	Virus de la encefalomiocarditis	Destrucción de células β por infección viral	Establecer rol potencial de virus en el desarrollo de DMT1	(Mordes & Rossini, 1981; Jun & Yoon, 2003)
	Virus de la rata Kilham			
	LCMV bajo promotor de insulina			

3.2 Fitoterapia de Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que afecta a todos los países del mundo, pero afecta aún más a los países en vías de desarrollo donde los sistemas de salud son frágiles, y el acceso a los medicamentos es difícil y costoso. Por ello como alternativa muchos pacientes recurren a la medicina tradicional, cuyo acceso es más sencillo y menos costoso.

A continuación, se describe la evidencia en otras patologías de las dos plantas a evaluar en la investigación, así como los compuestos activos de otras plantas con evidencia en DM y algunos mecanismos de acción. Por último, se describen algunos estudios etnofarmacológicos realizados en Guatemala.

3.2.1 Especies vegetales y aspectos farmacognósticos

Las dos plantas a investigar fueron seleccionadas por no tener evidencia alguna de efecto hipoglucemiante o antidiabético, sin embargo, cuentan con evidencia en otras patologías y a continuación se describe dicha evidencia.

3.2.1.1 *Piper jacquemontianum* Kunth. (Cordoncillo)

Tabla 5. Actividades evaluadas de *P. jacquemontianum*, compuestos activos y parte utilizada.

Actividad	Parte	Extracción	Dosis	Compuestos activos	Referencia
Antiinflamatoria	Hoja	Infusión de 10 g de materia vegetal en 100 mL, 15 minutos en reposo	750 y 1000 mg/Kg		(Hernández, 2007)

3.2.1.2 *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (Salvia sija)**Tabla 6.** Actividades evaluadas de *L. alba*, compuestos activos y parte utilizada.

Actividad	Parte	Extracción	Dosis	Compuestos activos	Referencia
Antiinflamatoria	Hojas	600 g en percolación caliente con éter de petróleo, cloroformo, etanol y agua, mediante soxhlet.	460 y 500 mg/kg		(Haldar, et al., 2012)
Anticonvulsivante	Hojas	Separación de aceites esenciales por cromatografía de gases.	50, 100, 200, 400 y 800 mg/kg	Aceites esenciales	(de Barros, do Vale, Muniz, & de Abreu, 2000)
Citotóxica	Hojas y tallos	300 g en hidrodestilación con microondas por 30 min en 250 mL de agua.		Citral y carvona	(Mesa-Arango, et al., 2009)
Antioxidante	Flores y hojas	Secadas al sol por 7 días, 1 kg de material en metanol.	34.4 ug/mL		(Ara & Nur, 2009)

3.2.2 Compuestos activos

Gran cantidad de compuestos han sido aislados y evaluados para determinar si tienen una actividad antidiabética o hipoglicemiante (Tabla 7). A continuación se describen los compuestos de algunas plantas con evidencia de actividad.

Cinco fitoesteroles encontrados en *Aloe vera* (L.) Burm.f. fueron extraídos y estudiados por Tanaka et al (2006). Demostrando mediante un modelo *in vivo* en ratones diabéticos que la administración de dichos compuestos por 28 días disminuían en 28 % a 64 % los niveles de glucosa en ayuno. Los compuestos fueron identificados como lofenol, 24-metil-lofenol, 24-etil-lofenol, cicloartanol y 24-metilen-cicloartanol.

Alonso-Castro, Miranda-Torres, González-Chávez, & Salazar-Olivo (2008) estudiaron el efecto del ácido clorogénico extraído de *Cecropia obtusifolia* Bertol. en preadipocitos 3T3-F442A, demostrando que dicho compuesto estimula la captación de glucosa en adipocitos sensibles a la insulina y resistentes a insulina, sin efectos proadipogénicos apreciables.

Chen, Li, Wu, Ren, & Zhang (2008) aislaron un sesquiterpeno glicósido, Nerolidol-3-O-a-L-ramnopiranosil(1-4)-a-L-ramnopiranosil(1-2)-[a-L-ramnopiranosil(1-6)]-b-D-glucopiranosida, de las hojas de *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. El efecto hipoglucemiante del compuesto aislado fue demostrado mediante un modelo *in vivo* en ratas diabéticas inducidas por aloxano. La administración del sesquiterpeno glicósido fue en dosis de 25 mg/Kg y 75 mg/Kg y a las 72 h de ser administrado se realizó la cuantificación de glucosa plasmática, evidenciando una disminución significativa y demostrando el efecto hipoglucemiante.

Cinco compuestos (dos iridoides y tres antraquinonas) fueron extraídos y aislados de las raíces secas de *Morinda citrifolia* L. con potencial de producir un efecto hipoglicemiante por Kamiya et al (2008). El modelo utilizado fue en ratas macho diabéticas inducidas por estreptozotocina y cada compuesto aislado se administró vía oral a una dosis de 100 mg/Kg. Únicamente dos compuestos presentaron el efecto hipoglicemiante, éstos fueron damnacantol-3-O-β-D-primeverósido y morindona-6-O-β-D-primeverósido.

Alagesan, Thennarasu, Kumar, Sankarnarayanan, & Balsamy (2012) realizaron la extracción, separación y purificación del glicósido dihidro-3,3',4',5,7 – pentahidroxiflavona de las hojas de *Psidium guajava* L. El compuesto extraído obtuvo un resultado de 99.50 % de inhibición de α-glucosidasa de intestino de rata.

La identificación de dos poliacetilenos (falcarindiol y falcarinol) extraídos por fraccionamiento bioguiado de las raíces de *Daucus carota* L. llevada a cabo por El-Houri et al (2015). Mediante modelos *in vitro* de adipocitos 3T3-L1 y células miotúbulos, demostraron que los compuestos aislados tienen posibles efectos antidiabéticos.

Jia et al (2015) demostraron el efecto hipoglicémico e hipolipemiante de la neohesperidina extraída de *Citrus aurantium* L., mediante un modelo *in vivo* en ratones macho KK-Ay. La neohesperidina fue administrada durante seis semanas a una dosis de 50 mg/Kg. Se comprobó que los niveles de glucosa en ayuno, glucosa sérica, proteína sérica glicosilada disminuyeron; aumentaron los niveles de tolerancia a glucosa oral y sensibilidad a la insulina. Además, disminuyeron los niveles de triglicéridos, colesterol total, y leptina.

Ibitoye, Uwazie, & Ajiboye (2017) emplearon un método *in vivo* en ratas diabéticas inducidas por aloxano e *in vitro* (inhibición de glucosidasa y amilasa) para analizar la actividad antidiabética de los frutos de *Cucumis sativus* L. Empleando tres fracciones del extracto, únicamente una fracción mostró actividad, donde se identificó el kaempferol. Siendo evidenciada su actividad inhibitoria de glucosidasa y amilasa, disminución de niveles de glucosa, actividad hipolipemiante y antioxidante.

Al-Malki (2019) empleó las hojas de *Artemisia absinthium* L. para extraer ácido shiquímico y administrar 50 mg/Kg y 100 mg/Kg del extracto a ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina.

Se comprobó el efecto hipoglucemiante del extracto aunque el efecto es menor en comparación con la metformina. También evaluó la actividad antioxidante y demostró su efecto en glutatión, catalasa, superóxido dismutasa y peroxidación lipídica.

Tabla 7. Compuestos aislados con actividad evidenciada.

Planta	Compuestos	Referencia
<i>A. vera</i>	Lofenol, 24-metil-lofenol, 24-etil-lofenol, cicloartanol y 24-metilen-cicloartanol.	(Tanaka et al, 2006)
<i>C. obtusifolia</i>	Ácido clorogénico	(Alonso-Castro et al, 2008)
<i>E. japonica</i>	Nerolidol-3-O-a-L-ramnopiranosil(1-4)-a-L-ramnopiranosil(1-2)-[a-L-ramnopiranosil(1-6)]-β-D-glucopiranosida	(Chen et al, 2008)
<i>M. citrifolia</i>	damnacantol-3-O-β-D-primeverósido y morindona-6-O-β-D-primeverósido.	(Kamiya et al, 2008)
<i>P. guajava</i>	dihidro-3,3',4',5,7 – pentahidroxiflavona glicósido	(Alagesan et al, 2012)
<i>D. carota</i>	Falcarinol y falcarindiol	(El-Houri et al, 2015)
<i>C. aurantium</i>	Neohesperidina	(Jia et al, 2015)
<i>C. sativus</i>	Kaempferol	(Ibitoye et al, 2018)
<i>A. absinthium</i>	Ácido shiquímico	(Al-Malki, 2019)

3.2.3 Mecanismos de acción

En la Figura 3 se encuentra un resumen de la farmacología clínica de DM, incluyendo los diversos mecanismos mediante los cuales actúan. Sin embargo, las plantas que cuentan con evidencia científica de ejercer efectos antidiabéticos e hipoglicemiantes también cuentan con evidencia acerca de los mecanismos para lograr dicho efecto.

Entre las plantas cuyo mecanismo de acción ha sido evidenciado se encuentra *Bidens pilosa* L. Hsu, Lee, Chang, Huang, & Yang (2009) realizaron un extracto acuoso de toda la planta y al finalizar el tratamiento en ratas extrajeron sus páncreas para posteriores análisis. Los resultados de liberación de insulina bajo tratamiento fueron altos por lo cual se determinó que el extracto ejerce un efecto estimulante de secreción de insulina dependiente de dosis. Sin embargo dicho efecto fue únicamente en ratas db/db, pues en las diabéticas no se redujo la hiperglicemia. Esto sugiere que la planta controla los niveles de glucosa via liberación de insulina de los islotes pancreáticos.

En el caso de *C. aurantium* se han evidenciado dos posibles mecanismos a través de los cuales ejerce su efecto antidiabético. Choi et al (2012) llevaron a cabo un experimento *in vitro* en células NCI-H716 con cuatro extractos de la cáscara (hexano, diclorometano, acetato de etilo y butanol). La fracción de hexano obtuvo el mejor resultado en niveles de secreción de GLP-1, y por ende a ésta

se le realizó un ensayo de microarray que demostró que las células se someten a una despolarización a través de canales de potasio y transición de calcio para liberar el GLP-1.

La actividad del extracto etanólico de las hojas de *P. guajava* fue analizada por Eidenberger, Selg, & Krennhuber (2014) mediante un ensayo de inhibición de DPP4 *in vitro* de DPP4 obtenida de suero plasmático de personas no diabéticas. Demostrando una actividad inhibitoria de DPP4 dependiente de la dosis. Este mecanismo coincide con una clase de medicamentos antidiabéticos denominados inhibidores de DPP4.

Gezginci-Oktayoglua et al (2014) demostraron que el mecanismo de acción de *Beta vulgaris* L. consiste en incrementar el número de GLUT 2 hepáticos a través de Akt2. El experimento fue realizado en ratas diabéticas inducidas por STZ mediante un ensayo de inmunotinción. El ensayo demostró que el extracto de las hojas incremento el Akt2 nuclear y la síntesis de GLUT 2, estableciendo una relación entre ambas, y coincidiendo con el efecto demostrado en las ratas que recibieron insulina.

Jia et al (2015) evidenciaron el mecanismo de *C. aurantium* a través del ensayo western blot en hígado de ratones, comprobando que el extracto incrementa la fosforilación de AMPK y la expresión de PPAR. Tanto el AMPK y PPAR tienen roles importantes en la regulación de aspectos como balance energético y señalización de insulina durante la homeostasis de glucosa y lípidos. Además, se demostró una regulación de algunos genes como SCD-1, FAS y ACOX.

Noor, Gunasekaran, & Vijayalakshmi (2017) realizaron un extracto de las hojas de *A. vera* para comprobar su efecto antidiabético. Mediante la medición de niveles séricos de insulina comprobaron que en las ratas diabéticas con tratamiento del extracto éstos niveles fueron superiores a las diabéticas incluso con tratamiento de glibenclamida. Además, demostraron que el extracto repara y mejora morfológicamente los islotes pancreáticos, aumentando tanto el número como el diámetro, área y volumen de los mismos. En conclusión, el mecanismo de acción de *Aloe vera* es posiblemente incremento de secreción de insulina y restauración de islotes pancreáticos.

Gharib, Kouhsari, & Izad (2018) utilizaron un extracto del fruto de *Punica granatum* L. para evaluar su efecto en niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), p53, p65, miR-145 y ARNm del receptor de insulina (IRS-1, por sus siglas en inglés). Los resultados demostraron que el extracto mejora la hiperglicemia e hiperlipidemia a través de mejorar la sobreexpresión de los genes p53 y p65, así como disminuyendo los niveles de ARNm de IRS-1.

El mecanismo antidiabético de *Apium graveolens* L. fue estudiado por Mans & Aburjai (2019) por medio de un ensayo *in vitro* de ratas diabéticas inducidas por STZ. Estableciendo una hipótesis acerca del mecanismo, argumentando que es posible que el extracto de las semillas incremente el uso periférico de glucosa así como inhibir la reabsorción de glucosa en el túbulo proximal.

3.2.4 Etnofarmacología

Guatemala es un país diverso no solamente en cuanto a naturaleza sino también en forma cultural, pues cuenta con 25 etnias, siendo garífuna, xinca, ladina y otras 22 de origen maya (Girón, Freire, Alonzo, & Cáceres, 1991). La diversidad cultural conlleva un amplio conocimiento ancestral en plantas medicinales y medicina tradicional. De igual manera, existen creencias tradicionales acerca de la diabetes mellitus, como por ejemplo: que puede ser causada por un susto, enojo o emociones fuertes (Weller, et al., 1999). Sin embargo, también se conocen sus síntomas comunes, que no es contagiosa pero si es crónica y que debe ser tratada.

Cruz & Andrade-Cetto (2015) realizaron un estudio etnofarmacológico de los Kakchiqueles de Chimaltengo para conocer las plantas más utilizadas para tratar la DM tipo 2, mediante cuestionarios estructurados y visitas en 2011, 2012 y 2013. En total se entrevistaron a 108 mujeres y 20 hombres, todos con DM tipo 2 diagnosticada por médico. Entre los resultados obtenidos, el 97 % de las personas toma tratamiento farmacológico, 91 % usa también plantas medicinales y solamente un 3 % utiliza únicamente plantas medicinales; además, la forma más común de consumo es a través de infusión y el 99 % no tenía idea de que la ingesta de alguna planta puede causar daño.

Las plantas más utilizadas fueron divididas por región, la región I (bosque nuboso) y región II (bosque lluvioso) (Tabla 8). En total cinco plantas utilizadas por la población no tenían evidencia científica de efecto hipoglicemiante hasta esa fecha, éstas fueron *Quercus peduncularis* Neé, *Solanum americanum* Mill., *Hamelia patens* Jacq., *Neurolaena lobata* (L.), y *Croton guatemalensis* Lotsy.

Tabla 8. Plantas más utilizadas para tratar diabetes.

	Nombre	Evidencia de efecto hipoglicemiante	Parte más utilizada
Región I	<i>Lantana camara</i> L.	✓	Hojas
	<i>Taraxacum officinale</i> Webb.	✓	
	<i>Solanum americanum</i> Mill.	X	
	<i>A. absinthium</i>	✓	
	<i>A. vera</i>	✓	
	<i>Quercus peduncularis</i> Neé	X	
Región II	<i>Hamelia patens</i> Jacq.	X	Hojas
	<i>Neurolaena lobata</i> (L.)	X	
	<i>Croton guatemalensis</i> Lotsy.	X	
	<i>C. papaya</i>	✓	
	<i>C. obtusifolia</i>	✓	

Concluyendo que de las 11 plantas más utilizadas por la población, únicamente 6 cuentan con evidencia científica y 5 no cuentan con la misma, recomendando realizar estudios al respecto.

Andrews et al (2018) realizaron un estudio transversal en San Lucas Tolimán por medio de cuestionarios para entrevistar a personas con diabetes, promotores de salud y curanderos tradicionales, esto con el fin de conocer que plantas se utilizan, por qué se utilizan y otros aspectos.

Entrevistaron un total de 55 pacientes y 35 (63.6%) había utilizado plantas para tratar la diabetes, únicamente dos pacientes utilizaban solamente plantas y 33 pacientes también habían consumido metformina o gliburida. Los pacientes mencionaron un total de 18 especies de plantas diferentes, de las cuales 11 tenían evidencia de propiedades antidiabéticas hasta el momento (Tabla 9).

Tabla 9. Plantas sin evidencia de propiedades antidiabéticas.

Género y especie	Nombre común
<i>A. graveolens</i>	Apio
<i>A. vulgaris</i>	Altamisa
<i>B. vulgaris</i>	Remolacha
<i>Chamaedorea tepejilote</i> Liebm.	Pacaya
<i>Citrus x latifolia</i> (Yu. Tanaka)	Lima
<i>C. longirostrata</i>	Chipilín
<i>D. carota</i>	Zanahoria
<i>Mutisia subulata</i>	Hierba de jote
<i>A. citrodora</i>	María Luisa
<i>N. lobata</i>	Tres puntas
<i>Smilax domingensis</i> Wild.	Zarzaparrilla
<i>Y. gigantea</i>	Izote

Las cuatro plantas más utilizadas son *A. absinthium*, *M. oleifera*, *C. papaya* y *N. lobata*. Los promotores de salud mencionaron tanto plantas que ellos recomendaban así como plantas que sabían que la comunidad utilizaba, así como el uso de hongos pero no especificaron detalles del mismo. *A. absinthium*, *N. lobata*, *Tecoma stans* (L.) Juss. Ex Kunth y *E. japonica* fueron las plantas mencionadas tanto por los promotores como por los pacientes.

En un estudio etnobotánico realizado en Nicaragua, Coe & Anderson (1996), descubrieron mediante entrevistas y recopilación de datos de campo, que los garífunas utilizan a *Piper jacquemontianum* Kunth para la fiebre, el dolor, problemas digestivos y la diabetes. Además, especifican que se utiliza principalmente las hojas en infusión. En total, se identificaron en el estudio 75 familias, 193 géneros y 254 especies, de las cuáles 229 eran medicinales, 93 comestibles y 94 de usos anciliares.

3.3 Descubrimiento de nuevas drogas

El progreso natural de la diabetes mellitus limita los distintos tratamientos disponibles, incluyendo las restricciones impuestas por las comorbilidades existentes (enfermedad vascular e insuficiencia renal) y la necesidad tanto de evitar hipoglicemia, aumento de peso e interacciones farmacológicas (Bailey, Tahrani, & Barnett, 2016). Dichos aspectos han impulsado la investigación y desarrollo de nuevas drogas y nuevos tipos de tratamientos, así como diferentes dianas para tratar la enfermedad (Tabla 10).

Tabla 10. Nuevas drogas, tipos de tratamiento o diana en estudio para tratar la diabetes mellitus.

Fármaco	Mecanismo de acción	Efecto	Referencia
Sinogliatin Piragliatin	Activadores de glucocinasa	Incrementan secreción de insulina, promueven síntesis de glucógeno en hígado y reducen producción de glucosa.	(Zhu et al, 2018; Zhi & Zhai, 2016)
Fasiglifam (TAK-875) JTT-851	Agonista de FFAR1 en páncreas e intestino	Aumentan secreción de insulina e incretina de células L enteroendocrinas	(Kaku, Enya, Nakaya, Ohira, & Matsuno, 2015; Li et al, 2016)
Imeglimina	Bloqueador de fosforilación oxidativa	Incrementa la secreción de insulina y disminuye gluconeogénesis	(Pacini, Mari, Fouquieray, Bolze, & Roden, 2015)
IdegLira (Degludec + Liraglutida) Lixilan (Lixisenatida + Insulina glargina)	Agonista de insulina basal	Efectos miméticos de GLP-1 e insulina al mismo tiempo	(Linjawi et al, 2017)
Péptidos híbridos y quiméricos (GLP1/GIP u otros peptidos intestinales + glucagon)	Agonistas o antagonistas parciales de péptidos específicos	Efectos miméticos de la incretina o péptido específico en combinación	(Sadry & Drucker, 2013)
Potenciadores de señalización del receptor de insulina (XmetA, demetilasterriquinona, sales de vanadio)	Prolongan la fosforilación de tirosina de la unidad B del receptor de insulina	Aumentan efecto de insulina	(Bhaskar et al, 2012; Webster, Park, & Pirrung, 2003)

Agonistas del receptor de adiponectina no peptídico	Agonistas de ADIPOR1 y ADIPOR2	Aumentan el efecto de la insulina	(Okada-Iwabu, Iwabu, Ueki, Yamauchi, & Kadowaki, 2015)
Análogos de FGF21 (LY2405319)	Agonistas de FGF21	Aumentan sensibilidad a insulina y favorecen perfil lipídico	(Gaich et al, 2013)
Inhibidores de hidroxisteroide deshidrogenasa-1	11 β Inhibe su conversión a cortisol en hígado y tejido adiposo	Aumenta sensibilidad a insulina y favorece perfil lipídico	(Heise et al, 2014)
Activadores de adenosina monofosfato cinasa	de Incrementa sus efectos celulares de metabolismo	Aumenta entrada de glucosa y su metabolismo	(Coughlan, Valentine, Ruderman, & Saha, 2014)

3.3.1 Insulinas

La insulina es una opción de tratamiento muy común para la diabetes mellitus tipo 2 y se utiliza principalmente en la parte final de la enfermedad (Cahn, Miccoli, Dardano, & Del Prato, 2015). Sin embargo, su modo de administración inyectable, la propensión a aumentar de peso y padecer hipoglucemia son algunas deficiencias que han impulsado el desarrollo de nuevas insulinas como los análogos de acción prolongada o acción corta, e inhalada u oral.

3.3.1.1 Análogos de acción prolongada

Estos análogos son una oportunidad de lograr un mejor control glucémico con menos efectos secundarios, así como menor riesgo de hipoglucemia y una extensión de acción temporal de más de 24 horas (Cahn et al, 2015).

Degludec es una insulina de acción prolongada que fue aprobada por la Agencia de Medicina Europea (EMA), cuya vida media es de 24.5 horas y su efecto metabólico es de 42 h luego de inyectarse (Ratner et al, 2013). En un estudio de fase 3 se asoció a una tasa menor de episodios globales de hipoglucemia nocturnos en comparación con insulina glargina.

Otro análogo de este tipo es la insulina glargina U300 que fue aprobada por la EMA y FDA en 2015. Ésta forma un depósito subcutáneo tras la inyección que permite la liberación gradual y prolongada, obteniendo un control de hasta 36 horas. En diversos estudios de comparo con la glargina de 100 U/mL y luego de 6 meses de tratamiento la glargina U300 fue asociada a un menor número de casos de hipoglucemia nocturna (Yki-Järvinen et al, 2014).

El análogo LY2605541 es capaz de unir tres moléculas de agua, esto aumenta el tamaño de la molécula y retrasa su absorción y filtración renal, aumentando la vida media de la molécula (Hirose, 2016). En los estudios IMAGINE de fase 3, la molécula se asoció a una gran reducción significativa de hemoglobina glicosilada y menor hipoglicemia nocturna en comparación con la glargina de 100 U/mL, aunque en total se asoció a un mayor número de episodios de hipoglicemia (Garg et al, 2015).

Sin embargo, la compañía anunció que terminaba el desarrollo de éste análogo debido a la inversión de tiempo y dinero necesaria para llevar a cabo estudios IMAGINE (Hirose, 2016).

3.3.1.2 Análogos de acción rápida:

Fueron introducidos al mercado a mediados de 1990 y desde entonces se han continuado mejorando y desarrollando (Cahn et al, 2015). Estos análogos tienen tanto un inicio más rápido como una duración más corta pero proveen un mejor control de la glucosa post prandial en comparación con la insulina humana y con riesgo de hipoglicemia no significativo.

Su desarrollo se ha realizado por diferentes vías como los cambios en la formulación, diferentes vías de administración y nanotecnología (Tabla 11).

Tabla 11. Nuevos descubrimientos de análogos de insulina de acción rápida.

	Composición o descripción	Características	Referencia
Cambios en formulación			
BioD-090 (VIAject®)	Insulina recombinada con EDTA	Multímeros de insulina con disociación rápida en dímeros y monómeros	(Heinemann et al ,2011)
rHuPH20 (Hylenex®)	Insulina recombinada con hialaronidasa	Incrementa el riego subcutáneo	(Morrow, Muchmore, Hompesch, & Ludington, 2013)
Aspart de insulina de acción ultrarrápida (FIAsp®)	Insulina combinada con nicotinamida y arginina	Incrementa el flujo sanguíneo local	(Davis, Kuriakose, & Clements, 2018; Paquot & Scheen, 2018).
Insulina de acción ultra rápida Bio-Chaperone	BioChaperona más lispro insulina	Mejora la difusión de insulina por absorción sanguínea	(Cahn et al, 2015)
Diferentes formas de administrar insulina			
Calentamiento local de sitio de inyección (InsuPatch®)	Parche de calor suave aplicado en sitio de administración subcutánea	Incrementa perfusión en tejidos y acelera la farmacocinética	(Cahn et al, 2015)
Administración intradermal	Vía intradermal	Absorción rápida	(McVey et al, 2012)
Inhalada (Afrezza®), Exubera®	Absorción pulmonar	Mayor área de superficie y biodisponibilidad y necesita altas dosis.	(Nuffer, Trujillo, & Ellis, 2015; Del Prato et al, 2008)
Oral	En spray para absorción en mucosa de la orofaringe	Acelera la farmacocinética e incrementa el área de absorción	(Cahn et al, 2015)
Administración de chorro	Inyección de chorro subcutáneo	Dispersión sobre gran área subcutánea	(Engwerda, Abbink, & Tack, 2011)
Nanotecnología			
Nanored inyectable	Nanopartículas de dextrano cargadas con insulina y enzimas específicas de glucosa	Liberación de insulina dependiente de glucosa	(Gu, et al, 2013)

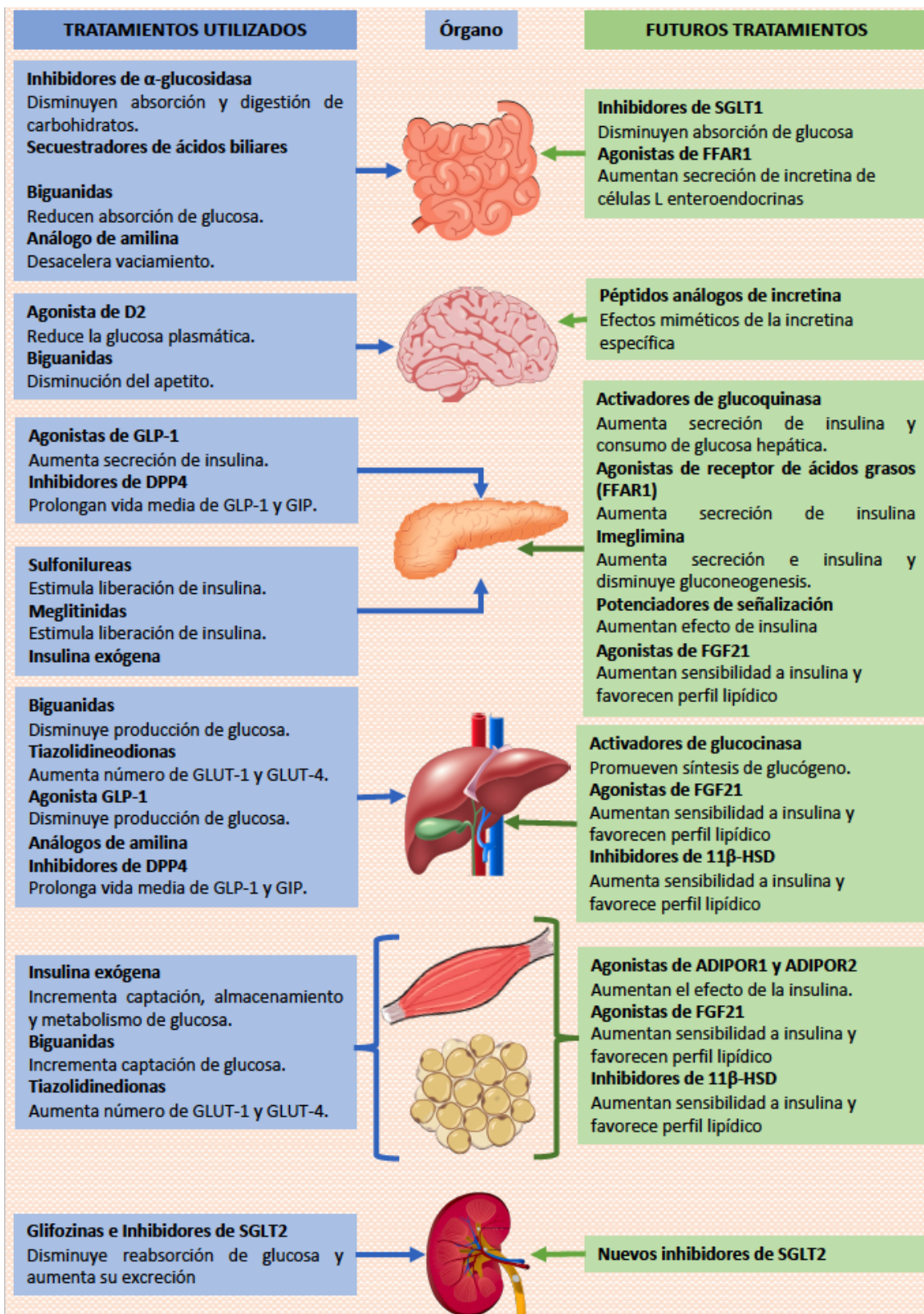


Figura 7. Resumen y comparación de farmacología clínica de diabetes mellitus.

IV. JUSTIFICACIÓN

Según los datos estadísticos obtenidos por el Sistema de Información Gerencial de Salud, durante los años 2016 al 2019, 455,330 personas fueron diagnosticadas con algún tipo de diabetes mellitus en la República de Guatemala (Figura 2).

Esa cantidad de diagnósticos es un dato alarmante, principalmente por que en dicho período de tiempo el aumento fue permanente año tras año y es de esperar que el comportamiento se mantenga si no se implementan políticas de salud y medidas correspondientes. En 2012 en Guatemala, murieron aproximadamente 33.5 personas por diabetes mellitus, por cada 100,000 habitantes, siendo 28.2 hombres y 38.5 mujeres respectivamente por cada 100,000 habitantes (INE, 2012). Además, comparando datos de 2008 y 2016 se evidencia un incremento de 37 % en distribución de mortalidad a nivel nacional (Sam, 2017).

Los servicios de prevención en Guatemala son deficientes, un ejemplo de ello es que solo el 19 por ciento de los hombres en 2010 se realizaron el análisis para detectar diabetes (MSPAS, 2010). Además, no existe un total acceso a servicios y medicamentos pues únicamente el 60% de una muestra de guatemaltecos que padecen alguna enfermedad aguda lograron adquirir los medicamentos que se les recetaron (Martins, Luiza, Bastos, & Ross-Degnan, 2013). Otra problemática es el acceso geográfico a los servicios de salud, sobre todo en el interior del país ya que tanto una ubicación remota, la falta de infraestructura de transporte público, los costos de viajar, y lo a menudo intransitable de los caminos debido a las inclemencias del tiempo hacen de las distancias al centro de salud pública o el hospital público más cercano un gran obstáculo para las poblaciones indígenas que viven en zonas remotas y no cuentan con vehículo (Chomat, Solomons, Montenegro, Crowley, & Bermudez, 2014).

Los problemas anteriormente descritos conducen a que la población, principalmente indígena, utilice la medicina natural para tratar las enfermedades. Es por ello que nuestro país necesita un uso de tratamientos naturales que posean evidencia científica para su utilización. Generar evidencia científica de plantas utilizadas para tratar la diabetes mellitus es de suma importancia para mejorar la calidad de vida de las poblaciones que las utilizan.

Los resultados de esta investigación pretenden generar evidencia científica acerca del uso de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth. (Cordoncillo) como tratamiento alternativo para hiperglicemia causada por diabetes mellitus.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- 5.1.1 Evaluar el efecto hipoglucemiante de los extractos de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth. (Cordoncillo) en ratones macho CD-1 de ocho semanas de edad inducidos por estreptozotocina.

5.2 Objetivos específicos

- 5.2.1 Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto de *L. alba* en ratones macho CD-1 diabéticos mediante parámetros de glucosa sanguínea.
- 5.2.2 Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto de *P. jacquemontianum* en ratones macho CD-1 diabéticos mediante parámetros de glucosa sanguínea.
- 5.2.3 Comparar el efecto hipoglucémico de glibenclamida 5 mg/kg en ratones macho CD-1 diabéticos.
- 5.2.4 Determinar el efecto protector del extracto de *L. alba* en la pérdida de peso relacionada a diabetes en ratones macho CD-1 diabéticos.
- 5.2.5 Determinar el efecto protector del extracto de *P. jacquemontianum* en la pérdida de peso relacionada a diabetes en ratones macho CD-1 diabéticos.

VI. HIPÓTESIS

6.1 Los extractos de dos concentraciones de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth. (Cordoncillo) tienen actividad farmacológica en un modelo de ratones diabéticos CD-1 inducidos por estreptozotocina.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo

6.1.1 Hojas de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (Salvia sija) y *Piper jacquemontianum* Kunth. (Cordoncillo).

7.2 Muestra

6.2.1 Extractos de *P. jacquemontianum* y *L. alba*.

7.3 Materiales

7.3.1 Recursos humanos

7.3.1.1 Autor del trabajo: Br. José Agustín Aceituno Castro

7.3.1.2 Asesor del trabajo de investigación: Dr. Rodrigo Castañeda Molina

7.3.1.3 Revisora del trabajo de investigación: Licda. Gloria Navas Escobedo

7.3.2 Recursos materiales

7.3.2.1 Bebederos de ratones

7.3.2.2 Jaulas

7.3.2.3 Jaulas metabólicas

7.3.2.4 Jeringas desechables

7.3.2.5 Agujas

7.3.2.6 Sondas nasogástricas

7.3.2.7 Tiras reactivas de glucosa

7.3.2.8 Tubos Eppendorf

7.3.2.9 Micropipeta automática

7.3.2.10 Puntas de micropipeta automática

7.3.2.11 Tubos vacutainer de tapón rojo

7.3.3 Biológicos

6.3.3.1 Ratones CD-1

6.3.3.2 *P. jacquemontianum*

6.3.3.3 *L. alba*

7.3.4 Equipos

- 7.3.4.1 Microlab 300 (Vital Scientific BV)
- 7.3.4.2 Incubadora MIDI 40 (Thermo Scientific) Marietta, Estados Unidos
- 7.3.4.3 Computadora portátil
- 7.3.4.4 Glucómetro
- 7.3.4.5 Centrifugadora (Premiere) Virginia, Estados Unidos
- 7.3.4.6 Balanza semianalítica (Nordika) Ciudad de México, México
- 7.3.4.7 Balanza analítica (OHAUS) Nueva Jersey, Estados Unidos

7.3.5 Reactivos

- 7.3.5.1 Estreptozotocina 97% (MP Biomedicals™) Illkirch, Francia
- 7.3.5.2 Ketamina 10% INY (DutchFarm) Nederhorst den Berg, Países Bajos
- 7.3.5.3 Xilazina 2% INY (DutchFarm) Nederhorst den Berg, Países Bajos
- 7.3.5.4 Glibenclamida (Sigma-Aldrich) St. Louis, Missouri, Estados Unidos
- 7.3.5.5 Dimetilsulfóxido (Merck) Darmstadt, Alemania
- 7.3.5.6 Tri-sodio citrato di hidrato (Quimiprova) Guatemala
- 7.3.5.7 Ácido cítrico monohidrato (Quimiprova) Guatemala
- 7.3.5.8 D(+) Glucosa anhidra PFB (Merck, Alemania).
- 7.3.5.9 Glucosa GOD (Dyasis) Holzheim, Alemania
- 7.3.5.10 Proteína total FS (Dyasis) Holzheim, Alemania
- 7.3.5.11 Colesterol total FS (Dyasis) Holzheim, Alemania
- 7.3.5.12 Albumina FS (Dyasis) Holzheim, Alemania
- 7.3.5.13 Triglicéridos FS (Dyasis) Holzheim, Alemania
- 7.3.5.14 Ácido úrico FS (Dyasis) Holzheim, Alemania

7.3.6 Cristalería

- 7.3.6.1 Espátula
- 7.3.6.2 Beaker
- 7.3.6.3 Balón aforado

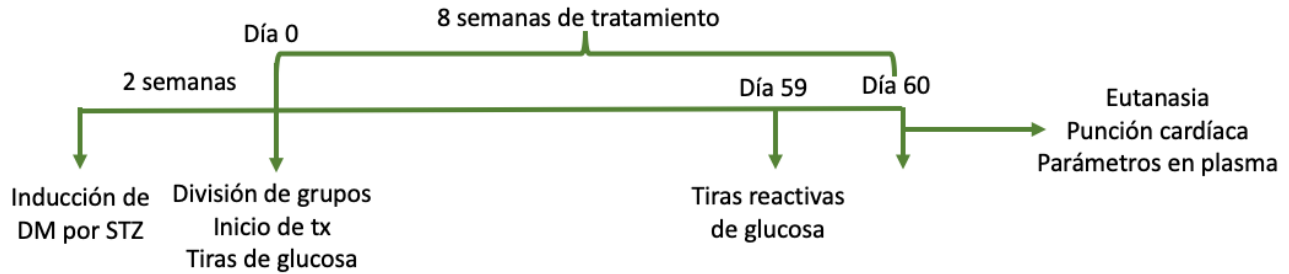
7.4 Métodos

7.4.1 Declaración ética

Todos los procedimientos experimentales en animales se llevaron a cabo de acuerdo con la Guía del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Research, National Research Council (US) Institute for Laboratory Animal, 1996). El protocolo fue sometido a evaluación por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y fue aprobado (CICUAL-CCQQF-01-2020).

7.4.2 Diseño experimental

- Número de muestra: el número de ratones por grupo fue calculado mediante a la desviación estándar obtenida previamente en la validación del método de inducción de DM por estreptozotocina, utilizando el software G Power. El número no debe ser menor a 5 ni mayor a 9, asegurando así la variabilidad intra grupo, y el poder discriminante entre los grupos.
- Grupo 1 (normal): Ratones no diabéticos que recibieron diariamente una solución de dimetilsulfóxido al 1.5% vía oral, por 8 semanas.
- Grupo 2 (control negativo): Ratones diabéticos que recibieron diariamente una solución de dimetilsulfóxido al 1.5% vía oral, por 8 semanas.
- Grupo 3 (control positivo): Ratones diabéticos que recibieron diariamente 5 mg/mg glibenclamida vía oral, disuelta en una solución de dimetilsulfóxido al 1.5% , por 8 semanas.
- Grupo 4: Ratones diabéticos que recibieron diariamente 100 mg/kg de *L. alba* por vía oral, disuelta en una solución de dimetilsulfóxido al 1.5%, por 8 semanas.
- Grupo 5: Ratones diabéticos que recibieron diariamente 50 mg/kg de *L. alba* por vía oral, disuelta en una solución de dimetilsulfóxido al 1.5%, por 8 semanas
- Grupo 6: Ratones diabéticos que recibieron diariamente 100 mg/kg del extracto de *P. jacquemontianum* por vía oral, disuelta en una solución de dimetilsulfóxido al 1.5%, por 8 semanas.
- Grupo 7: Ratones diabéticos que recibieron diariamente 50 mg/kg del extracto de *P. jacquemontianum* por vía oral, disuelta en una solución de dimetilsulfóxido al 1.5%, por 8 semanas



7.4.3 Eutanasia

Se llevó a cabo el día 60 de experimentación, mediante una dosis letal de una mezcla de ketamina y Xilazina, a una dosis ≥ 120 mg/kg y 12 mg/kg respectivamente, vía intraperitoneal (American Veterinary Medical Association, 2020).

7.4.4 Determinación de actividad hipoglucemiante

A las 4 y 8 semanas de tratamiento se midieron valores de glucosa en sangre por medio de tiras reactivas de glucosa. El peso fue determinado diariamente durante las 8 semanas de tratamiento.

7.4.5 Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Prism 8 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Todos los datos se expresaron como la media \pm error estándar de la media (S.E.M.). Las comparaciones estadísticas se realizaron entre cambios (Δ) de parámetro (medida después de los inicios de experimentación- medida en tiempo 0) para pesos (medidas repetidas) y datos finales para glucosa utilizando ANOVA de dos vías entre los grupos tratados con tratamiento experimental y tratados con vehículo, seguido de la prueba posterior de comparación Bonferroni. Los valores de $P < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

VIII. RESULTADOS

Se evaluó la actividad hipoglucemiante de las *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br ex Britton & P. Wilson (LA) y *Piper jacquemontianum* Kunth. (PJ) en ratones macho CD-1 de 8 semanas de edad (n=8) en un modelo de diabetes mellitus inducida por estreptozotocina (STZ) 55 mg/kg en dos días consecutivos (110 mg/kg) comparado con Glibenclamida 5 mg/kg (GLI) como control positivo. La evaluación de pesos corporales mostró una significativa reducción causada por diabetes en el grupo STZ en comparación con el grupo normal desde el día 16 de inducción con STZ ($^{\#}P<0.05$) (**Figura 1(A)**) y durante las 10 semanas posteriores (**Figura 1(C)**). El grupo GLI mostró valores promedio mayores al grupo STZ. La administración oral de los extractos de las especies vegetales no evidenció una protección a la pérdida de peso relacionada con diabetes inducida por STZ luego de 10 semanas de evaluación; sin embargo, el grupo de LA50 durante la administración experimental mostró un comportamiento similar al grupo GLI (**Figura 1(B)**).

La evaluación de glucosa en sangre mostró una reducción significativa en el grupo de glibenclamida (GLI) 5 mg/kg en el día 60 de administración ($^{\#\#\#}P<0.001$), y en el grupo de *L. alba* 50 mg/kg (LA50) y *L. alba* 100 mg/kg (LA100) en el día 60 ($^*P<0.05$), (**Figura 2**). La evaluación de peso corporal mostró una reducción significativa causada por diabetes en el grupo STZ en comparación con el grupo normal desde el día 16 tras inducción con estreptozotocina ($^{\#}P<0.5$) (**Figura 3(A)**), manteniéndose hasta la semana 10 de tratamiento ($^{\#}P<0.5$) (**Figura 3(B)**). Los cambios de glucosa sanguínea mostraron aumento significativo al día 0, 30 y 60 ($^{\#\#\#}P<0.001$) en el grupo STZ. Sin embargo, los grupos experimentales de *P. jacquemontianum* 100 y 50 mg/kg no presentaron una reducción significativa, sino al contrario una tendencia al aumento progresivo, mostrando valores iniciales altos en ambos grupos, siendo de aproximadamente 465 mg/dL (**Figura 4**).

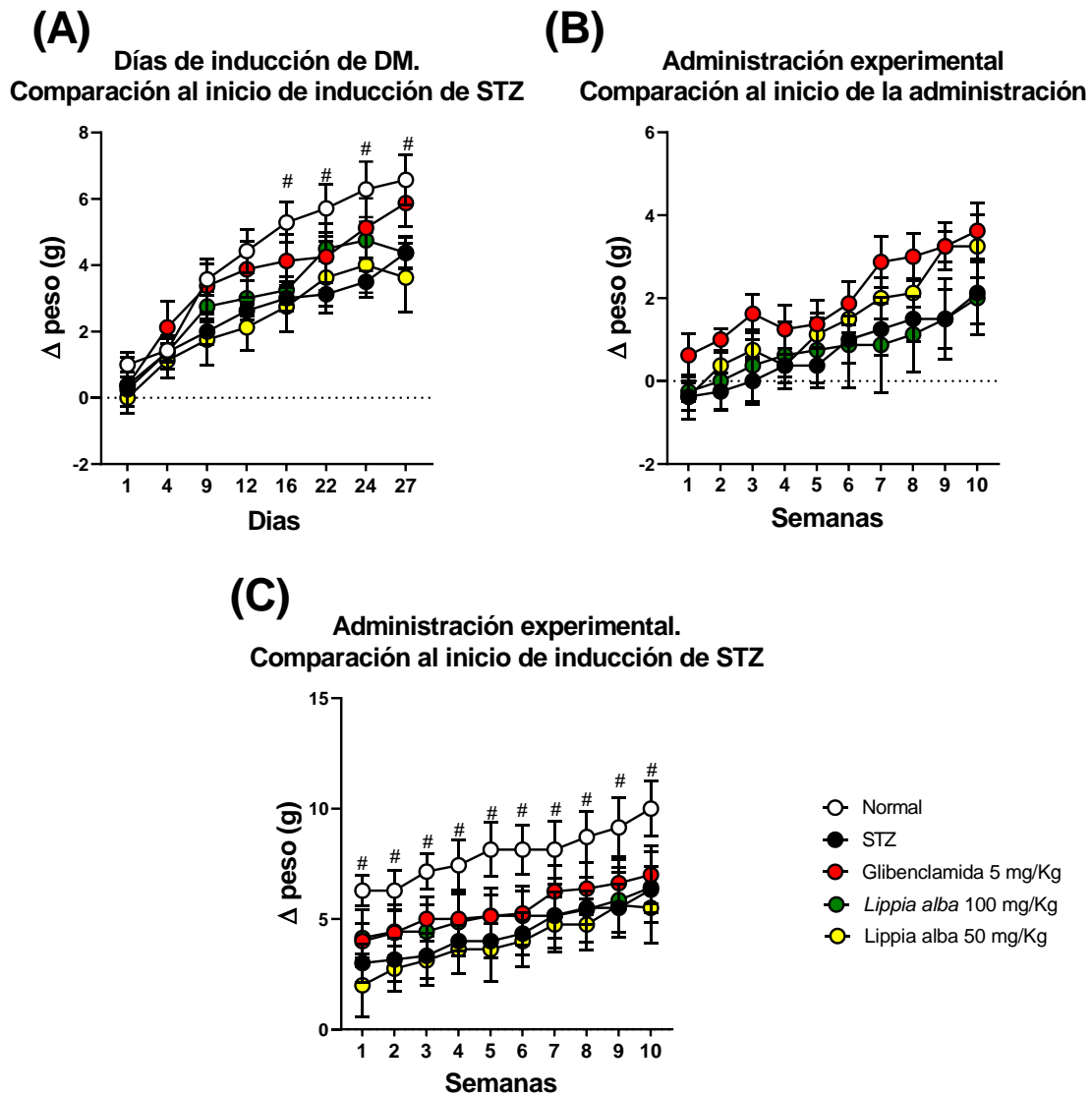


Figura 1. Cambios en peso corporal en el modelo de diabetes mellitus inducida por STZ en ratones macho CD-1 (n=8). Cambios en peso corporal luego de 27 días tras inducción (A) y progresión diabética de 10 semanas tras inducción luego de administración de extractos (C) mostraron que la administración intraperitoneal de STZ produjo una disminución significativa en el peso corporal desde el día 16 de inducción, manteniéndose así hasta la semana 10 de administración de extractos. Cambios en peso corporal durante las 10 semanas de tratamiento (B) no mostraron protección con relación a la pérdida de peso provocada por diabetes mellitus en los grupos que recibieron extracto. Los datos fueron expresados como media \pm error estándar de la media. Los valores de $^{\#}P < 0.05$ fueron considerados significativos comparados con el grupo normal.

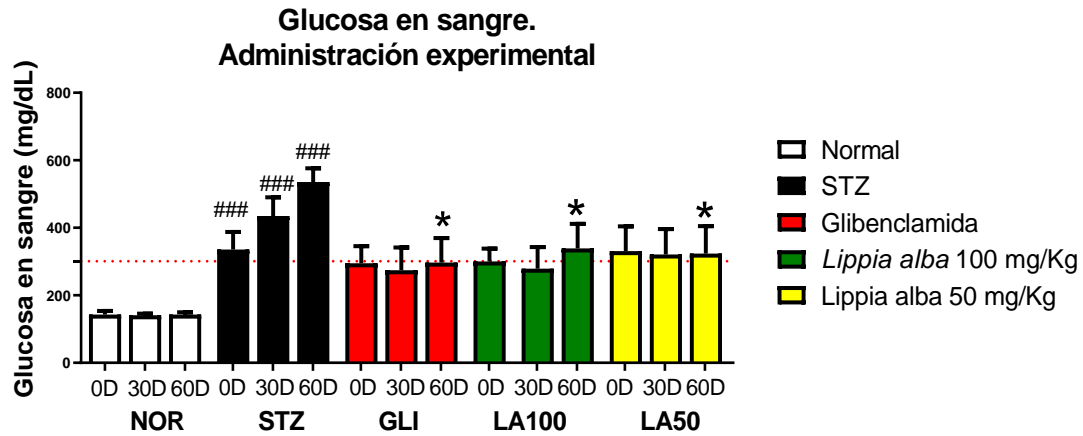


Figura 2. Glucosa sanguínea en un modelo de diabetes mellitus inducida por STZ en ratones macho CD-1 (n=8). glucosa en sangre en el día 60 de administración mostraron una reducción significativa en el grupo GLI, LA100 y LA50 comparado con el control STZ, y un aumento significativo en el grupo STZ comparado con el normal. Los datos fueron expresados como media \pm error estándar de la media. Los valores de $###P<0.001$ fueron considerados significativos comparados con el grupo normal; $*P<0.05$ comparado con el grupo control.

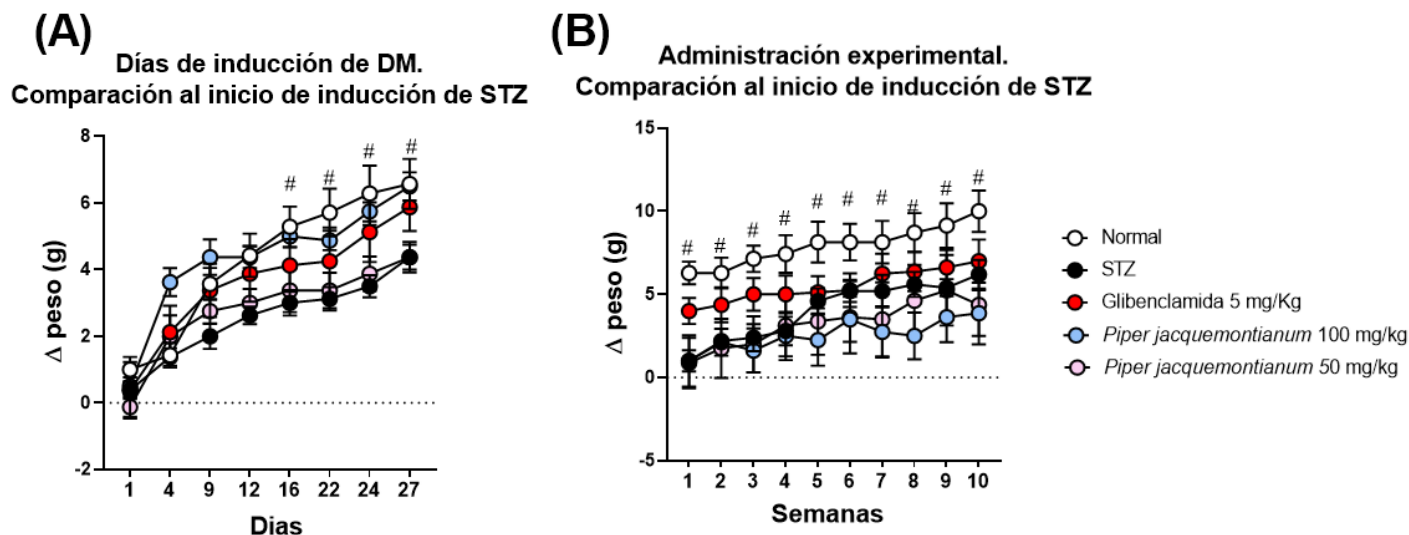


Figura 3. Cambios en peso corporal en el modelo de diabetes mellitus inducida por STZ en ratones macho CD-1 (n=8). Cambios en peso corporal luego de 27 días tras inducción (A) y progresión diabética de 10 semanas tras inducción luego de administración de extractos (B) mostraron que la administración intraperitoneal de STZ produjo una disminución significativa en el peso corporal desde el día 16 de inducción, manteniéndose así hasta la semana 10 de administración de extractos. Los datos fueron expresados como media \pm error estándar de la media. Los valores de $\#P < 0.05$ fueron considerados significativos comparados con el grupo normal.

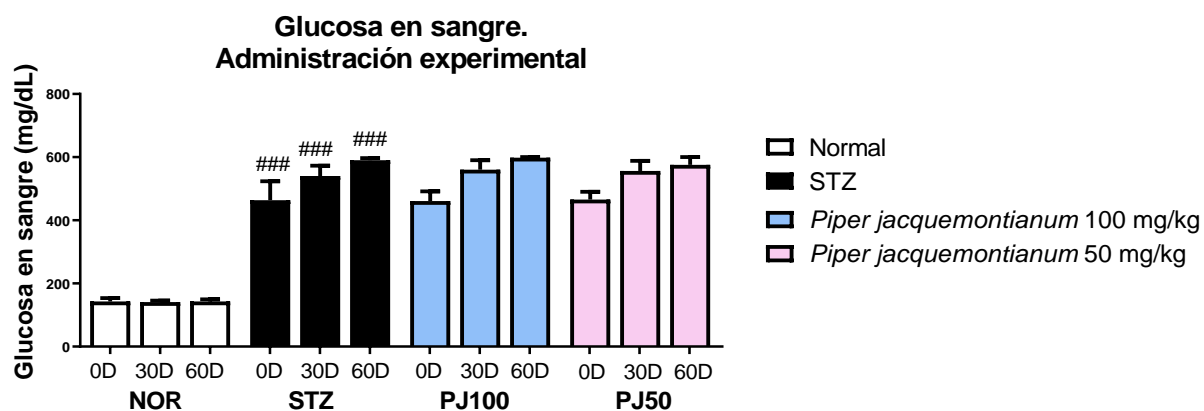


Figura 4. Cambios en glucosa sanguínea en un modelo de diabetes mellitus inducida por STZ en ratones macho CD-1 (n=8). Cambios en glucosa en sangre en el día 0, 30 y 60 de administración mostraron un aumento significativo en el grupo STZ comparado con el normal. En los grupos experimentales PJ100 y PJ50 se presentó una tendencia al aumento de valores de glucosa sin

significancia. Los datos fueron expresados como media \pm error estándar de la media. Los valores de $###P<0.001$ fueron considerados significativos comparados con el grupo normal.

IX. DISCUSIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica que se caracteriza por causar hiperglicemia debido a la producción deficiente de insulina o el desarrollo de insulinoresistencia (OMS, 2018). En las últimas décadas, Guatemala ha seguido las tendencias mundiales hacia el aumento de diabetes debido a los estilos de vida sedentarios, mayor urbanización y el impacto de los estilos de vida agrícolas tradicionales (Chary et al., 2012). Prueba de ello que en el 2013, se posicionó entre los cinco países con mayor prevalencia de diabetes en la región de Sudamérica y América Central (SACA) con un 10.87 % (Aschner et al., 2013) El presente estudio evaluó el efecto hipoglucémico de *L. alba* (Salvia sija) y *P. jaquemontianum* (Cordoncillo) en dos diferentes concentraciones en un modelo de ratones CD-1 diabéticos inducidos por estreptozotocina.

Se observó una reducción significativa en la glucosa sanguínea tras 60 días de administración de *L. alba* a 50 mg/kg y 100 mg/kg. *L. alba* es una planta aromática usada ampliamente en toda SACA para diferentes propósitos, entre ellos: problemas gastrointestinales y respiratorios, hipertensión, problemas de piel y diabetes (Ospina y Pinzón, 1995; Hennebelle, Sahpaz, Joseph & Bailleul, 2007). En Guatemala, se ha evidenciado su uso principalmente por la comunidad afrocaribeña en el municipio de Livingston de diferentes formas (Girón, Freire, Alonzo & Cáceres, 1991; Cáceres, Álvarez, Ovando & Samayoa, 1991). Por lo que este estudio aporta al conocimiento etnofarmacológico de la especie en la región.

Otros estudios respaldan los resultados obtenidos, demostrando la capacidad de *L. alba* (quimiotipo Carvona) de reducir los niveles de glucosa en ratas Wistar diabéticas (50 mg/kg STZ) tras 21 días de tratamiento con su aceite esencial 500 µL/kg vía oral (Acevedo-Estupiñan, Stashenko & Rodríguez-Sanabria, 2019). Dicho estudio se realizó en grupos de 5 ratas Wistar inducidas con únicamente una inyección intraperitoneal de STZ 50 mg/kg, realizando también el análisis de triglicéridos, glucosa sanguínea, adipocitoquinas y enzimas hepáticas (ALT y AST). El estudio reportó que el aceite esencial ejerce un efecto benéfico en el metabolismo, disminuyendo los niveles de glucosa y triglicéridos, y regulando la ganancia de peso corporal en ratas.

La composición química de un aceite esencial es muy variable, presentando la existencia de muchos quimiotipos. Se ha sugerido una clasificación de los quimiotipos basado en estos criterios, el aceite esencial de *L. alba* está constituido por siete quimiotipos (Hennebelle et al, 2006). El quimiotipo I son los aceites que poseen citral, linalol, β -cariofileno; el quimiotipo II tiene tagetenona como principal compuesto; aquellos que poseen limoneno en gran cantidad con una cantidad variable de carvona o cetonas monoterpénicas son del quimiotipo III; y los quimiotipos restantes se caracterizan por presentar compuestos específicos como mirceno (IV), γ -terpineno (V), canfora-1,8-cineol (VI) y estragol (VII). Sin embargo, a pesar de que se ha propuesto una clasificación única de quimiotipos, no es posible debido a los diversos factores que pueden afectar la composición de los constituyentes del aceite.

Varios estudios han reportado diferentes quimiotipos de *L. alba* en Guatemala. En un estudio se evaluaron 16 poblaciones de la especie colectada en todo el país, identificando el quimiotipo IV (mirceno y (Z)-Tagetenona) en 14 poblaciones y el quimiotipo I (1,8-cineol, neral y geranial) en dos poblaciones (Fischer et al, 2004). También se ha identificado un quimiotipo I (limoneno y piperitona) en una población de crecimiento silvestre en Chimaltenango (Senatore & Rigano, 2001). Sin embargo, los autores no encontraron la especie de origen natural y el clima del lugar resultó ser inadecuado para la especie. Ambos compuestos del quimiotipo III han presentado actividad antidiabética (Muruganathan, Srinivasan & Indumathi, 2013; More et al, 2014; Muruganathan & Srinivasan, 2016; Bacanli et al, 2017). Dentro de la caracterización de sus compuestos no volátiles de sus hojas se han encontrado tres iridoides (Hennebelle et al, 2007) y uno de ellos, el genipósido, ha mostrado capacidad antidiabética a través de diferentes mecanismos como la regulación de secreción de insulina a través de la vía de la fosfatidilinositol-3-fosfato quinasa (Guo, Liu & Yin, 2014), y a través de la regulación de los receptores del péptido similar al glucagón tipo 1 y los canales iónicos de calcio (Guo, Xia, Gao, Yin & Liu, 2012; Zhang et al, 2016). Además, la especie vegetal ha presentado actividad antiinflamatoria en ratas Wistar (Saha et al, 2011) y actividad antioxidante en cerebro, corteza cerebral e hígado de ratas Wistar (Chies et al, 2013).

Las especies del género *Piper* son abundantes en Guatemala, siendo reconocidas más de 80 especies en total, aunque la mayoría carecen de evidencia etnobotánica en nuestro país, existe evidencia *in*

vivo de algunas especies con efecto hipoglucémico o antidiabético. Los garífunas en Nicaragua utilizan a *P. jacquemontianum* para la fiebre, el dolor, problemas digestivos y la diabetes. Además, especifican que se utiliza principalmente las hojas en infusión (Coe & Anderson, 1996). Otras especies han sido estudiadas específicamente en diabetes, *P. sanctum* y *P. crocatum* han mostrado un efecto hipoglucémico en modelos de diabetes inducida por aloxano (120 y 150 mg/kg) , en ratas Wistar y Sprague dawley (Safithri & Fahma, F, 2008; Rodríguez-Magaña, et al, 2019). *P. longum* también ha mostrado un efecto hipoglucémico en un modelo de diabetes inducida por STZ (dosis única de 50 mg/kg) en ratas, así como un efecto protector en complicaciones renales y hepáticas asociadas a diabetes (Nabi, et al, 2013).

Además, en *P. jacquemontianum* se han caracterizado diferentes compuestos químicos como el nerolidol, α -pineno , linalool y limoneno (Cruz, 2005; Cruz, et al, 2008, Martínez, 2009), cada uno de ellos con evidencia de efectos antidiabéticos o hipoglucémicos. El linalool y limoneno han presentado un efecto hipoglucémico en ratas con una dosis de 20 mg/kg y el efecto es mayor al combinarlos en una dosis de 10 mg/kg cada uno (Deepa & Anuradha, 2011; More, Kulkarni, Nalawade & Arvindekar, 2014). Se ha encontrado que el α -pineno ha disminuido los niveles de glucosa desde las 24 horas de administración en ratones diabéticos (Özbek & Yılmaz, 2017). Además, el nerolidol tiene un posible efecto inhibidor de α -amilasa en un ensayo *in vitro* (Mathew & Britto, 2012), siendo un posible candidato para el tratamiento de diabetes.

La glibenclamida es un hipoglucemiante oral del grupo de las sulfonilureas que actúa tanto a nivel pancreático como extra pancreático, aumentando la secreción de insulina en las células β pancreáticas existentes, reduce el umbral de sensibilidad a la glucosa y la producción de glucosa hepática (Sreejesh, Harikumar & Sreekumar, 2017). Además, también tiene una actividad hipoglucemiante crónica pues potencia la acción de la insulina, aumentando el número de sus receptores (Amaya-Chávez et al, 2007). Por ello, es utilizado en modelos de diabetes mellitus y se observó una disminución significativa en los niveles de glucosa en el grupo de glibenclamida 5 mg/kg. Por ende, es necesaria la existencia de células β pancreáticas para que la glibenclamida produzca un efecto.

Los resultados muestran que la administración diaria por vía oral de *Salvia sija*, produce un efecto hipoglucemiante, alcanzando niveles de glucosa similares al grupo glibenclamida 5 mg/kg. Es necesario realizar el análisis histológico de páncreas e *in vitro* para complementar datos y confirmar la actividad. Además, al existir antecedentes de otras especies de *Piper* y compuestos con evidencia de efecto antidiabético, no se descarta el uso de *P. jacquemontianum*.

Sin embargo, al ser un tratamiento de origen natural y por vía oral, *L. alba* representa una alternativa terapéutica o concomitante en el tratamiento de la diabetes mellitus. Sobre todo, en el interior y áreas rurales del país, donde el acceso total a la salud no existe y es necesario evaluar otras opciones, tomando en cuenta que dicha especie se encuentra distribuida en diferentes departamentos del país.

X. CONCLUSIONES

1. La administración oral del extracto de *L. alba* 100 y 50 mg/kg demostró una reducción significativa de los niveles de glucosa en sangre en ratones macho CD-1 diabéticos inducidos por estreptozotocina, durante la administración vía oral por 60 días, comparado con el grupo control diabético.
2. La administración oral del extracto de *P. jacquemontianum* 100 y 50 mg/kg en un modelo de diabetes inducido con estreptozotocina en ratones macho CD-1 no mostró una significativa alteración en los niveles de glucosa tras la administración vía oral durante 30 y 60 días.
3. La administración de glibenclamida a una dosis de 5 mg/kg mostró un efecto hipoglucemiante en ratones macho CD-1 diabéticos inducidos por estreptozotocina, comparable con la administración oral experimental de *L. alba* durante la administración vía oral por 60 días.
4. Los extractos de *L. alba* y *P. jacquemontianum* en todas las dosis evaluadas no mostraron un efecto protector en la pérdida de peso relacionada a diabetes en ratones macho CD-1 diabéticos inducidos por estreptozotocina. Sin embargo, el grupo de *L. alba* 50 mg/kg mostró una tendencia similar al grupo de glibenclamida.

XI. RECOMENDACIONES

1. Explorar si el quimiotipo de *L. alba* influye en la actividad hipoglucemiante en el mismo modelo de diabetes inducido por estreptozotocina.
2. Realizar estudios *in vitro* para complementar evidencia en mecanismos hipoglucemiantes como actividad inhibitoria de α -glucosidasa o dipeptidilpeptidasa IV, así como análisis de secreción de GLP-1 o insulina.
3. Realizar estudios histopatológicos de páncreas, hígado, adipocitos u otros órganos importantes a partir de viabilidad celular (hematoxilina y eosina) para evaluar posible protección en las células β en los grupos experimentales en comparación con el grupo control diabético.
4. Realizar un fraccionamiento del extracto mediante diferentes solventes y evaluar dichas fracciones en modelos de diabetes, para así conocer que fracción muestra un efecto hipoglucémico y así proponer el aislamiento e identificación de compuestos activos a partir de un fraccionamiento bioguiado.

XII. REFERENCIAS

- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 37(January), 81–90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- Abuhamdah, R; & Mohammed, A. (2014). Chemical, molecular pharmacology and neuroprotective properties of the essential oil derived from *Aloysia citrodora* Palau (Doctoral thesis). Durham University, England.
- Al-Malki, A. (2019). Shikimic acid from *Artemisia absinthium* inhibits protein glycation in diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1212-1216.
- Al-War, A., Kupai, K., Veszelka, M., Szücs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., . . . Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of Diabetes Research*, 1-12.
- Alagesan, K., Thennarasu, P., Kumar, V., Sankarnarayanan, S., & Balsamy, T. (2012). Identification of α -Glucosidase Inhibitors From *Psidium guajava* Leaves and *Syzygium cumini* Linn. Seeds. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 3(2), 316-322.
- Alonso-Castro, A., Miranda-Torres, A., González-Chávez, M., & Salazar-Olivo, L. (2008). *Cecropia obtusifolia* Bertol and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 458-464.
- American Veterinary Medical Association. (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Illinois: American Veterinary Medical Association.
- Andrews, C., Wyne, K., & Svenson, J. (2018). The Use of Traditional and Complementary Medicine for Diabetes in Rural Guatemala. *Journal of Health Care for the Poor and Underserved*, 29(4), 1188-1208.
- Ara, N., & Nur, H. (2009). In Vitro Antioxidant Activity of Methanolic Leaves and Flowers Extracts of *Lippia Alba*. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 4(1), 107-110.
- Aschner, P., Aguilar-Salinas, C., Aguirre, L., Franco, L., J, G., de Lapertosa, S., . . . Vinocour, M. (2014). Diabetes in South and Central America: An Update. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 238-243.
- Bailey, C., Tahrani, A., & Barnett, A. (2016). Future glucose-lowering drugs for type 2 diabetes. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 4(4), 350-359.
- Bhaskar, V., Goldfine, I., Bedinger, D., Lau, A, Kuan, H., . . . Corbin, J. (2012). A fully human, allosteric monoclonal antibody that activates the insulin receptor and improves glycemic control. *Diabetes*, 1263-1271.
- Brunton, L., Chabner, B., & Knollmann, B. (2012). Goodman & Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica. Ciudad de México, México: McGraw Hill.
- Cahn, A., Miccoli, R., Dardano, A., & Del Prato, S. (2015). New forms of insulin and insulin therapies for the treatment of type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol.*
- Calderón, J., Muñoz, E., & Quintanar, M. (2013). Estrés oxidativo y Diabetes Mellitus. *Revista de educación bioquímica*, 32(2).
- Calle, M., & Fernandez, M. (2012). Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolism*, 38, 183-191.
- Chang, S., Chiang, Y., Chang, C., Yeh, H., Shyur, L., Kuo, Y., . . . Yang, W. (2007). *Journal of Ethnopharmacology*, 232-236.
- Chary, A., Greiner, M., Bowers, C., & Rohloff, P. (2012). Determining adult type 2 diabetes-related health care needs in an indigenous population from rural Guatemala: a mixed-methods preliminary study. *BMC Health Services Research*, 12(1).
- Chen, H., Zheng, C., Li, J., Li, J., Zheng, L., & Huang, K. (2011). Apelin alleviates diabetes-associated endoplasmic reticulum stress in the pancreas of Akita mice. *Peptides*, 32(8), 1634-1639.

- Chen, J., Li, W., Wu, J., Ren, B., & Zhang, H. (2008). Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). *Phytomedicine*, 98-102.
- Choi, E., Kim, K., Yang, H., Shin, M., Suh, H., Lee, K., . . . Jang, H. (2012). Hexane fraction of *Citrus aurantium* L. stimulates glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion via membrane depolarization in NCI-H716 cells. *Biochip Journal*, 6(1), 41-47.
- Chomat, A., Solomons, N., Montenegro, G., Crowley, C., & Bermudez, O. (2014). Maternal health and healthseeking behaviors among indigenous Mam mothers from Quetzaltenango, Guatemala. *Revista Panamericana de Salud Pública.*, 35(2), 113-120.
- Coughlan, K., Valentine, R., Ruderman, N., & Saha, A. (2014). AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.*, 241-253.
- Cruz, E., & Andrade-Cetto, A. (2015). Ethnopharmacological field study of the plants used to treat type 2 diabetes among the Cakchiquels in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 238-244.
- Davis, A., Kuriakose, J., & Clements, J. (2018). Faster Insulin Aspart: A New Bolus Option for Diabetes Mellitus. *Clinical Pharmacokinetics*.
- de Barros, G., do Vale, T., Muniz, C., & de Abreu, F. (2000). Anticonvulsant Activity of Essential Oils and Active Oils and Active Principles from Chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Biological & Pharmaceuticals Bulletin*, 23(11), 1314-1317.
- Deeds, M., Anderson, J., Armstrong, A., Gastineau, D., Hiddinga, H., Jahangir, A., . . . Kudva, Y. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory Animals*, 131-140.
- Dekel, Y., Glucksam, Y., Elron-Gross, I., & Margalit, R. (2009). Insights into modeling streptozotocin-induced diabetes in ICR mice. *Laboratory Animals*, 55-60.
- Del Prato, S., Blonde, L., Martínez, L., Göke, B., Woo, V., Millward, A., . . . Freemantle. (2008). The effect of the availability of inhaled insulin on glycaemic control in patients with Type 2 diabetes failing on oral therapy: the evaluation of Exubera® as a therapeutic option on insulin initiation and improvement in glycaemic control in clinical prac. *Diabetic Medicine*, 662-670.
- Dufrane, D., van Steenberghe, M., Guiot, Y., Goebbels, R., Saliez, A., & Gianello, P. (2006). Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and beta-cell plasticity. *Transplantation*, 81(1), 36-45.
- Eidenberger, T., Selg, M., & Krennhuber, K. (2014). Inhibition of dipeptidyl peptidase activity by flavonol glycosides of guava (*Psidium guajava* L.): A key to the beneficial effects of guava in type II diabetes mellitus. *Fitoterapia*, 89, 74-79.
- El-Houri, R., Kotowska, D., Christensen, K., Bhattacharya, S., Oksbjerg, N., Wolber, G., . . . Christensen, L. (2015). Polyacetylenes from carrots (*Daucus carota*) improve glucose uptake in vitro in adipocytes and myotubes. *Food & Function*, 6(7), 2135-2144.
- Engwerda, E., Abbink, E., & Tack, d. G. (2011). Improved pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rapid-acting insulin using needle-free jet injection technology. *Diabetes Care*, 1804-1808.
- Escalada, F., & Salvador, R. (2010). Inhibidores de la reabsorción renal de glucosa: una nueva opción terapéutica para el tratamiento de la diabetes. *Avances en Diabetología*, 26(6), 448-450.
- Feliciano, J., & Sierra, J. (2008). NUEVAS TERAPIAS EN DIABETES: MÁS ALLÁ DE LA INSULINA INYECTABLE Y DE LOS ANTIDIABÉTICOS ORALES. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 54(5), 447-454.
- Fitsiou, E., Mitropoulou, G., Spyridopoulou, K., Vamvakias, M., Bardouki, H., Galanis, A., . . . Pappa, A. (2018). Chemical Composition and Evaluation of the Biological Properties of the Essential Oil of the Dietary Phytochemical *Lippia citriodora*. *Molecules*.

- Fonseca, V., Rosenstock, J., Wang, A., Truitt, K., & Jones, M. (2009). Colesevelam HCl Improves Glycemic Control and Reduces LDL Cholesterol in Patients With Inadequately Controlled Type 2 Diabetes on Sulfonylurea-Based Therapy. *Diabetes Care*, 31(8), 1479-1484.
- Gaich, G., Chien, J., Glass, L., Deeg, M., Holland, W., Kharitononkov, A., . . . Moller, D. (2013). The effects of LY2405319, an FGF21 analog, in obese human subjects with type 2 diabetes. *Cell Metabolism*, 18(3), 333-340.
- Garg, S., Jinnouchi, H., Dreyer, M., Mou, J., Hartman, M., Rosilio, M., & Bastyr, E. (2015). Greater HbA1c reduction with basal insulin peglispro (BIL) vs. insulin glargine (GL) in an open-label, randomized study in T1D patients (pts): IMAGINE 1. *Diabetes*.
- Gezginci-Oktayoglua, S., Sacanb, O., Bolkenta, S., Ipcic, Y., Kabasakalc, L., Senerc, G., & Yanardagba, R. (2014). Chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract ameliorates hyperglycemia by increasing GLUT2 through Akt2 and antioxidant defense in the liver of rats. *Acta Histochemica*, 116(1), 32-29.
- Gharib, E., Kouhsari, S., & Izad, M. (2018). *Punica granatum* L. Fruit Aqueous Extract Suppresses Reactive Oxygen Species-Mediated p53/p65/miR-145 Expressions followed by Elevated Levels of irs-1 in Alloxan-Diabetic Rats. *Cell Journal*, 19(4).
- Ghasemi, A., Khalifi, S., & Jedi, S. (2014). Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes. *Acta Physiological Hungarica*, 101(4), 408-420.
- Giovanni, P., Howes, M.-J., & Edwards, S. (2016). Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: a review. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Girón, L., Freire, V., Alonzo, A., & Cáceres, A. (1991). Ethnobotanical survey of medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 173-187.
- Gu, Z., Dang, T., Ma, M., Tang, B., Cheng, H., Jiang, S., . . . Anderson, D. (2013). Glucose-Responsive Microgels Integrated with Enzyme Nanocapsules for Closed-Loop Insulin Delivery. *ACS Nanotechnology*, 6758-6766.
- Haldar, S., Kar, B., Dolai, N., Kumar, R., Behera, B., & Haldar, P. (2012). In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of *Lippia alba*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 667-670.
- Heinemann, L., Nosek, L., Flacke, F., Albus, K., Krasner, A., Pichotta, P., . . . Steiner, S. (2011). U-100, pH-Neutral formulation of VIAject: faster onset of action than insulin lispro in patients with type 1 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 14(3).
- Heise, T., Morrow, L., Hompesch, M., Häring, H., Kapitza, C., Abt, M., . . . Fuerst-Recktenwald, S. (2014). Safety, efficacy and weight effect of two 11 β -HSD1 inhibitors in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16(11), 1070-1077.
- Hirose, T. (2016). Development of new basal insulin peglispro (LY2605541) ends in a disappointing result. *Diabetology International*, 7(1), 16-17.
- Hsu, Y., Lee, T., Chang, C., Huang, Y., & Yang, W. (2009). Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens Pilosa* water extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 379-383.
- Ibitoye, O., Uwazie, J., & Ajiboye, T. (2017). Bioactivity-guided isolation of kaempferol as the antidiabetic principle from *Cucumis sativus* L. fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 42(4).
- INE (Instituto Nacional de Estadística). (2012). *Indicadores Básicos de Salud 2012: Guatemala*. Retrieved April 2019, from <https://www.ine.gob.gt/sistema/uploads/2015/10/12/9d7Lu5VW9AJqkLm9wDxvdT4P6jqTtJS6.pdf>
- Jederstrom, G., Grasjo, J., Nordin, A., Sjöholm, I., & Andersson, A. (2005). Blood glucose-lowering activity of a hyaluronan-insulin complex after oral administration to rats with diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 7(6), 948-957.

- Jia, S., Hu, Y., Zhang, W., Zhao, X., Chen, Y., Sun, C., . . . Chen, K. (2015). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of neohesperidin derived from *Citrus aurantium* L. in diabetic KK-Ay mice. *Food & Function*, 6(3), 878-886.
- Jiménez-Aguilar, D., & Grusak, M. (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 357-364.
- Judzentiene, A., & Garjonte, R. (2016). Compositional Variability and Toxic Activity of Mugwort (*Artemisia vulgaris*) Essential Oils . *Natural product communications*.
- Jun, H., & Yoon, J. (2003). A new look at viruses in type 1 diabetes. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 8-31.
- Kaku, K., Enya, K., Nakaya, R., Ohira, T., & Matsuno, R. (2015). Efficacy and safety of fasiglifam (TAK-875), a G protein-coupled receptor 40 agonist, in Japanese patients with type 2 diabetes inadequately controlled by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 675-681.
- Kamiya, K., Hamabe, W., Harada, S., Murakami, R., Tokuyama, S., & Satake, T. (2008). Chemical Constituents of *Morinda citrifolia* Roots Exhibit Hypoglycemic Effects in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(5), 935-938.
- Lebovitz, H. (1997). Alpha-glucosidase Inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 26(3), 539-551.
- Lee, J., Yang, S., Oh, J., & Lee, M. (2010). Pharmacokinetics of drugs in rats with diabetes mellitus induced by alloxan or streptozocin: comparison with those in patients with type I diabetes mellitus. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1-23.
- Li, Z., Qiu, Q., Geng, X., Yang, J., Huang, W., & Qian, H. (2016). Free fatty acid receptor agonists for the treatment of type 2 diabetes: drugs in preclinical to phase II clinical development. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 871-890.
- Linjawi, S., Bode, B., Chaykin, L., Courrèges, J., Handelsman, Y., Lehmann, L., . . . Simpson, R. (2017). The Efficacy of IDegLira (Insulin Degludec/Liraglutide Combination) in Adults with Type 2 Diabetes Inadequately Controlled with a GLP-1 Receptor Agonist and Oral Therapy: DUAL III Randomized Clinical Trial. *Diabetes Therapy*, 8(1), 101-114.
- Lukic, M., Stosic-Grujicic, S., & Shahin, A. (1998). Effector mechanisms in low-dose streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Immunology*, 119-128.
- Mans, K., & Aburjai, T. (2019). Accessing the Hypoglycemic Effects of Seed Extract from Celery (*Apium graveolens*) in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 1-10.
- Martins, I., Luiza, V., Bastos, L., & Ross-Degnan, D. (2013). Access to medicines for acute illness in middle income countries in Central America. *Revista de Saude Publica*, 47(6), 1069-1079.
- McVey, E., Hirsch, L., Sutter, D., Kapitza, C., Dellweg, S., Clair, J., . . . Pettis, R. (2012). Pharmacokinetics and Postprandial Glycemic Excursions following Insulin Lispro Delivered by Intradermal Microneedle or Subcutaneous Infusion. *Journal of Diabetes Sci Tech*, 743-754.
- Mesa-Arango, A., Montiel-Ramos, J., Zapata, B., Durán, C., Betancur-Galvis, L., & Stashenko, E. (2009). Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(6), 878-884.
- Miller, R., Chu, Q., Xie, J., Foretz, M., Viollet, B., & Birnbaum, M. (2013). Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. *Nature*, 256-260.

- Mordes, J., & Rossini, A. (1981). Animal Models of Diabetes. *The American Journal of Medicine*, 70(2), 353-360.
- Morrow, L., Muchmore, D., Hompesch, M., & Ludington, E. (2013). Comparative pharmacokinetics and insulin action for three rapid-acting insulin analogs injected subcutaneously with and without hyaluronidase. *Diabetes Care*, 273-275.
- MSPAS (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social). (2010). . Encuesta Nacional de Salud Materno Infantil 2008 (ENSMI-2008/09). Informe Final: Mujeres. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS)/Instituto Nacional de Estadística (INE)/Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC).
- Noor, A., Gunasekaran, S., & Vijayalakshmi, M. (2017). Improvement of Insulin Secretion and Pancreatic β -cell Function in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Treated with Aloe vera Extract. *Pharmacognosy Research*, 9(1), 99-104.
- Nuffer, W., Trujillo, J., & Ellis, S. (2015). Technosphere insulin (Afrezza): a new, inhaled prandial insulin. *Annals of Pharmacotherapy*, 49(1), 99-106.
- Nwose, O., & Jones, M. (2013). Atypical Mechanism of Glucose Modulation by Colesevelam in Patients with Type 2 Diabetes. *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, 75-79.
- Odegaard, A., Jacobs, D., Sanchez, O., Goff, D., Reiner, A., & Gross, M. (2016). Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*, 15(1).
- Okada-Iwabu, M., Iwabu, M., Ueki, K., Yamauchi, T., & Kadowaki, T. (2015). Perspective of Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Diabetes Metabolism Journal*, 39(5), 363-372.
- Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. (2016). Perfil de salud de los pueblos indígenas de Guatemala. Guatemala.
- Ortiz, D., Valdez, A., López, L., Gaitán, I., Paz, M., Cruz, S., . . . Cáceres, A. (2013). Actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa por extractos de 18 especies vegetales nativas de Guatemala usadas en el tratamiento de afecciones nerviosas. *Revista Científica*, 23(1), 17-25.
- Pacini, G., Mari, A., Fouquieray, P., Bolze, S., & Roden, M. (2015). Imeglimin increases glucose-dependent insulin secretion and improves β -cell function in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 541-545.
- Paquot, N., & Scheen, A. (2018). Faster Aspart Insulin (FIASP). *Revue Medicale de Liege*, 73(4), 211-215.
- Pedrianes, P., & de Pablos, P. (2010). Saxagliptina, un nuevo inhibidor de la DPP-4 en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2: aspectos novedosos. *Avances en Diabetología*, 26(6), 445-447.
- Pérez, G., González, O., & Cano, M. (2010). Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2): de la glucosuria renal familiar al tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Nefrología*, 30(6), 618-625.
- Rashidian, A., Farhang, F., Vahedi, H., Reza, A., Ejtemai, S., Mehrzadi, S., & Mahdi, S. (2016). Anticonvulsant Effects of *Lippia citriodora* (Verbenaceae) Leaves Ethanolic Extract in Mice: Role of GABAergic System. *International Journal of Preventive Medicine*.
- Ratner, R., Gough, S., Mathieu, C., Del Prato, S., Bode, B., Mersebach, H., . . . Zinman, B. (2013). Hypoglycaemia risk with insulin degludec compared with insulin glargine in type 2 and type 1 diabetes: a pre-planned meta-analysis of phase 3 trials. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 175-184.
- Research, National Research Council (US) Institute for Laboratory Animal. (1996). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (us).
- Rodríguez, M. (2011). Manejo de plantas medicinales en el nororiente amazónico peruano. *Revista ECIPERÚ*, 8(2), 150-157.
- Rojas, I., & Novials, A. (2001). Amilina: del estudio molecular a las acciones fisiológicas. *Endocrinología y Nutrición*, 48(8), 234-245.

- Sadry, S., & Drucker, D. (2013). Emerging combinatorial hormone therapies for the treatment of obesity and T2DM. *Nature Reviews Endocrinology*, 425-433.
- Sam, B. (2017). Análisis de Situación: Enfermedades No Transmisibles 2017. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social., Departamento de Epidemiología, Guatemala.
- Santa Cruz, N., & Castillo, R. (2002). Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. *Hospital General Dr. Manuel Gea González*, 5(1), 33-41.
- Santos, K., & Vilanova, C. (2017). Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas como hipoglicemiantes por usuários do Programa de Fitoterapia da Universidade Federal do Maranhão, Brasil. *Scientia Plena*, 13(03).
- Steinmetz, K. (2002). Colesevelam hydrochloride. *Journal of Health System Pharmacy.*, 59(10), 932-939.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 537-546.
- Tabit, C., Chung, W., Hamburg, N., & Vita, J. (2010). Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: Molecular mechanisms and clinical implications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 11(1), 61-74.
- Tanaka, M., Misawa, E., Ito, Y., Habara, N., Nomaguchi, K., Yamada, M., . . . Higuchi, R. (2006). Identificación of Five Phytosterols from Aloe Vera Gel as Anti-diabetic Compounds. *Biological & Pharmaceutical Bulletin.*, 29(7), 1418-1422.
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insuline resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456-480.
- The Plant List. (2010, 07 14). Retrieved 04 2020, from <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/ild-20188>
- The Plant List. (2012, 02 11). Retrieved 04 2020, from <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-77033>
- The Plant List. (2012, 03 26). Retrieved 04 2020, from <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-6894>
- van den Oever, I., Raterman, H., Nurmohamed, M., & Simsek, S. (2010). Endothelial Dysfunction, Inflammation, and Apoptosis in Diabetes Mellitus. *Mediators of Inflammation*.
- Wang, Y., Li, C., Xiang, L., Huang, W., & He, X. (2016). Spirostanol saponins from Chinese onion (*Allium chinense*) exert pronounced antiinflammatory and anti-proliferative activities. *Journal of Functional Foods*, 208-219.
- Webster, N., Park, K., & Pirrung, M. (2003). Signaling effects of demethylasterriquinone B1, a selective insulin receptor modulator. *ChemBioChem*, 379-385.
- Weller, S., Baer, R., Pachter, L., Trotter, R., Glazer, M., García de Alba, J., & Klein, R. (1999). Latino Beliefs about Diabetes. *Diabetes Care*, 22(5).
- Yang, Y., & Santamaria, P. (2006). Lessons on autoimmune diabetes from animal models. *Clinical Science*, 627-639.
- Yki-Järvinen, H., Bergenstal, R., Ziemien, M., Wardecki, M., Muehlen-Bartmer, I., Boelle, E., & Riddle, M. (2014). New insulin glargine 300 units/mL versus glargine 100 units/mL in people with type 2 diabetes using oral agents and basal insulin: glucose control and hypoglycemia in a 6-month randomized controlled trial (EDITION 2). *Diabetes Care*, 37(12), 3235-3243.
- Zhi, J., & Zhai, S. (2016). Effects of Piragliatin, a Glucokinase Activator, on Fasting and Postprandial Plasma Glucose in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 56(2), 231-238.
- Zhu, X., Zhu, D., Li, X., Li, Y., Jin, X., Hu, T., . . . Chen, L. (2018). Dorzagliatin (HMS5552), a Novel Dual Acting Glucokinase Activator, Improves Glycemic Control and Pancreatic β -cell Function in Patients with Type 2 Diabetes: A 28-day Treatment Study Using Biomarker-Guided Patient Selection. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20(9), 2113-2120.



José Agustín Aceituno Castro
Tesista

Dr. Rodrigo Castañeda, PhD
Asesor

Licda. Gloria Navas Escobedo
Revisora

M.A. Lucrecia Martínez de Haase
Directora de la Escuela de Química Farmacéutica