

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

“Exploración farmacodinámica de cumarinas estructuralmente relacionadas obtenidas de *Tagetes lucida* con potencial antidiabético”

TESIS

Que para obtener el grado de Maestra en Farmacia

PRESENTA

L.F. Domínguez Quintana Laura Celeste

Director

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Farmacia de la UAEM por brindarme las instalaciones y equipos para el desarrollo de este proyecto, así como también a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por el apoyo otorgado a través de la beca de maestría con numero de apoyo 4018293.

Al Dr. Samuel por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por la asesoría y dirección, también por brindarme su confianza para realizar este proyecto de investigación.

A los miembros de mi comité tutorial la Dra. Gabriela Ávila, el Dr. Gabriel Navarrete y el Dr. Samuel Estrada, por sus comentarios y aportes durante el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Jaime Escalante del Centro de Investigaciones Químicas de la UAEM, por su apoyo para realizar los estudios de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

A la Dra. Gabriela Ávila y la Maestra Guadalupe Yáñez del CENITT por compartir el protocolo para la realización del ensayo de α -glucosidasas, así como también por la asesoría brindada.

A mi comité revisor integrado por la Dra. Jessica Sánchez, el Dr. Rafael Villalobos, el Dr. José Rivera, el Dr. Samuel Estrada y el Dr. German Bernal, por sus valiosos comentarios y aportaciones a este proyecto.

A mis compañeros y amigos de laboratorio; Xime, Sat, Alexis, Julia, Des, Mai, Danis, Hugo, Luis, Monse e Itsi, gracias por darme su ayuda dentro y fuera del laboratorio, por sus consejos y por compartir sus conocimientos conmigo, también por hacer que el trabajo en el lab fuera más ameno.

A mis amigos de la maestría por compartir un poco de sus conocimientos conmigo y por la ayuda que me brindaron a lo largo de este proyecto.

DEDICATORIAS

A mis papás Gregoria y Nestor, porque gracias a su esfuerzo y trabajo he podido culminar una meta más, gracias por creer en mí, alentarme a hacer las cosas y acompañarme en el camino, por ayudarme a que todo se sintiera más ligero y brindarme su amor y paciencia en los días más complicados.

A mi hermana Leticia por su paciencia, por ser una gran hermana y enseñarme que aún en los momentos difíciles siempre habrá una manera de seguir adelante.

A mis sobrinos Sebastian y Saúl, por darme su amor, espero ser ejemplo para que sepan que son capaces de lograr cualquier cosa que se propongan.

A mi Mamá Chica † gracias por creer en nosotras y querernos tanto, ojalá pudieras estar aquí.

A mi mejor amiga Anita, gracias por acompañarme por tantos años, por enseñarme tanto y por tu apoyo incondicional.

A mi E. y D. Xime y a Juli, por las incontables veces que me brindaron su apoyo, gracias por enseñarme cosas más allá del trabajo en el laboratorio, por animarme, escucharme y estar presentes.

A la amiga que hice en este camino; Su, porque definitivamente esta etapa fue mejor contigo al lado.

A mis amigos Anita, Marian, Dianita, Fer, Kao, Ale, Moon e Isra por acompañarme durante toda la licenciatura y también en la maestría, gracias por ser refugio cuando las cosas se ponían difíciles y por apoyarme aún en la distancia.

A mi Cami † por todos los años que me acompañaste y te desvelaste conmigo mientras estudiaba, fuiste la mejor amiga canina.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Metabolismo y homeostasis de la glucosa	13
1.2. Insulina; biosíntesis y secreción	14
1.2.1. Mecanismo de acción y vías de señalización	16
1.2.2. Resistencia a insulina (RI)	17
1.3. Diabetes	18
1.3.1. Epidemiología	18
1.3.2. Fisiopatología de la diabetes tipo 2: no insulino dependiente	20
1.3.2.1. Criterios de diagnóstico	21
1.3.2.2. Tratamiento farmacológico	21
2. ANTECEDENTES	23
2.1. Medicina tradicional: plantas medicinales	23
2.2. Generalidades de <i>Tagetes</i>	23
2.2.1. <i>Tagetes lucida</i>	24
2.2.2. Antecedentes etnomédicos	25
2.2.3. Composición fitoquímica	26
2.3. Cumarinas	26
2.3.1. Actividad biológica	27
3. JUSTIFICACIÓN	29
4. HIPÓTESIS	30
5. OBJETIVO GENERAL	30
6. OBJETIVOS PARTICULARES	30
7. METODOLOGÍA	31
7.1. Obtención de los extractos	31
7.2. Comparación fitoquímica	31
7.3. Cromatografía en columna	31
7.4. Elucidación estructural	32
7.5. Evaluación farmacológica	32
7.5.1. Animales	32
7.5.2. Curva de tolerancia oral a glucosa y a sacarosa: extractos	33
7.5.3. Modelo de diabetes no insulino dependiente	33
7.5.3.1. Ensayo antidiabético agudo: extractos	34
7.5.4. Ensayo toxicológico agudo del extracto diclorometánico (EDTI)	34
7.5.5. Curva de tolerancia a glucosa y a sacarosa: cumarinas	34

7.5.6.	Evaluación del efecto antidiabético: cumarinas	35
7.5.7.	Inhibición de las α -glucosidasas	35
7.5.7.1.	Reactivos y equipo	35
7.5.7.2.	Extracción de las enzimas	35
7.5.7.3.	Reacción enzimática y cuantificación de la glucosa liberada	36
7.6.	Evaluaciones <i>in silico</i>	36
7.6.1.	Predicción de la toxicidad	36
7.6.2.	Acoplamiento molecular	37
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
8.1.	Rendimiento de los extractos y comparación fitoquímica	38
8.2.	Evaluaciones <i>in vivo</i> : extractos	40
8.2.1.	Curva de tolerancia oral a glucosa	40
8.2.2.	Curva de tolerancia oral a sacarosa	41
8.2.3.	Ensayo antidiabético agudo de EDTI y EMTI	41
8.2.4.	Ensayo toxicológico agudo del extracto diclorometánico (EDTI)	42
8.3.	Cromatografía en columna	43
8.3.1.	Elucidación estructural	46
8.3.1.1.	Resonancia magnética de H^+ y ^{13}C : LD3	46
8.3.1.2.	Resonancia magnética de H^+ y ^{13}C : LD4	47
8.3.1.3.	Resonancia magnética de H^+ y ^{13}C : LD5	48
8.4.	Evaluaciones <i>in vivo</i> : cumarinas	50
8.4.1.	Curva de tolerancia oral a glucosa	50
8.4.2.	Curva de tolerancia oral a sacarosa	51
8.4.3.	Antidiabético agudo	51
8.5.	Pruebas <i>in silico</i>	52
8.5.1.	Predicción de la toxicidad	52
8.5.2.	Acoplamiento molecular	54
8.5.2.1.	Receptor activado por proliferadores peroxisomales (PPAR)	54
8.5.2.2.	Dipeptidil peptidasa IV	55
8.5.2.3.	Enzimas participes en la digestión de carbohidratos	57
8.6.	Ensayo <i>in vitro</i>	60
8.6.1.	Inhibición de α -glucosidasas	60
9.	CONCLUSIONES	63
10.	PERSPECTIVAS	64
11.	REFERENCIAS	65

12. ANEXOS.....	72
-----------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la resistencia a insulina, adaptado de Pollak C., 2016 y Cruz, C. 2019.....	17
Tabla 2. Valores de referencia y criterios de diagnóstico de prediabetes y diabetes tipo 2.....	21
Tabla 3. Tratamiento farmacológico de la diabetes tipo dos, adaptado del IMSS, 2018 y Brunton, 2019. (Brunton, 2019).....	22
Tabla 4. Actividad sobre el control glucémico, así como otros efectos de algunas cumarinas simples.....	28
Tabla 5. Estructuras cristalográficas utilizadas en el acoplamiento molecular.....	37
Tabla 6. Rendimiento de los extractos obtenidos de <i>T. lucida</i>	38
Tabla 7. Ensayo toxicológico agudo en ratones macho de la cepa CD1 (grupos con n=3).....	43
Tabla 8. Fracciones finales obtenidas por cromatografía en columna.....	44
Tabla 9. Punto de fusión de los compuestos y rendimiento respecto al peso del EDTI sometido a fraccionamiento.....	45
Tabla 10. Señales ¹ H-RMN del compuesto LD3.....	46
Tabla 11. Señales ¹³ C-RMN del compuesto LD3.....	47
Tabla 12. Señales ¹ H-RMN del compuesto LD4.....	47
Tabla 13. Desplazamientos químicos de ¹³ C-RMN del compuesto LD4.....	48
Tabla 14. Señales ¹ H-RMN de LD5.....	49
Tabla 15. Señales ¹³ C-RMN del compuesto LD5.....	49
Tabla 16. Predicción de la toxicidad de las cumarinas.....	53
Tabla 17. Acoplamiento dirigido sobre el sitio de unión en PPAR γ	54
Tabla 18. Acoplamiento molecular dirigido sobre el sitio de unión de vildagliptina a la DPP4.....	56
Tabla 19. Acoplamiento dirigido sobre el sitio hidrolítico de la amilasa pancreática.....	57
Tabla 20. Acoplamiento dirigido sobre los sitios de unión en los dos dominios de la maltasa-glucoamilasa.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biosíntesis de la insulina, modificado de González (2017).....	14
Figura 2. Algunos mecanismos de secreción de insulina, adaptado de Gardner y Shoback (2018). Las flechas azules indican estimulación mientras que las rojas hacen referencia a la inhibición.....	15
Figura 3. Casos de diabetes reportados en el mundo (en millones) a través de los años. Adaptado de IDF, 2025.....	19
Figura 4. IDF, 2025; prevalencia de diabetes en adultos de 20 a 79 años en el 2024.....	20
Figura 5. Serrato, 2014; distribución de <i>Tagetes lucida</i> en México.....	24
Figura 6. UNAM, 2009; áreas de uso de <i>T. lucida</i> en México.....	26
Figura 7. Tipos de cumarinas naturales.....	27
Figura 8. Fracciones primarias y compuestos aislados a partir del fraccionamiento del EDTI.....	44

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. CONABIO; <i>Tagetes lucida</i> silvestre, forma característica de las hojas y flores.	25
Imagen 2. Extracto hexánico, diclorometánico y metanólico, longitud de onda corta (izq.) y larga (der.).	39
Imagen 3. Extractos: A) hexánico (EHTI), B) diclorometánico (EDTI) y C) Metanólico (M) comparados con 6,7,8-trimetoxicumarina (1), 6,7-dimetoxicumarina (2), 7-preniloxicumarina (3), 7-metoxicumarina (4) y 6,7-dihidroxycumarina (5). Longitud de onda corta (izq.) y larga (der.).	39
Imagen 4. Comparación de 7-metoxicumarina con LD1, LD2 y LD3, así como pp de otras fracciones. Revelación en UV de onda corta, larga y con sulfato sérico.	45
Imagen 5. Comparación de 6,7-dimetoxicumarina con el pp LD5r antes y después realizar lavados con hexano (LD5), pp de fracciones posteriores. Revelación en UV de onda corta, larga y con sulfato sérico.	45
Imagen 6. 6,7,8-trimetoxicumarina (678TMC), pp LD4 antes y después de realizar lavados con hexano (LD4.1) y agua madre (LD4.2). Revelación en UV de onda corta, larga y con sulfato sérico.	45
Imagen 7. Estructura de la 7-metoxicumarina (herniarina).	46
Imagen 8. Estructura química de la 6,7,8-trimetoxicumarina (dimetilfraxetina).	47
Imagen 9. Estructura química de la 6,7-dimetoxicumarina (escopoletina).	48
Imagen 10. Interacciones de a) rosiglitazona, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina, con el sitio de unión a ligando presente en PPARγ.	55
Imagen 11. Interacciones con los aminoácidos presentes en el <i>pocket</i> de la DPP4 (PDB: 6B1E). a) vildagliptina, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina.	56
Imagen 12. Interacciones de: a) acarbosa, un inhibidor de alfas glucosidasas, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina con el sitio hidrolítico de la amilasa pancreática (PDB: 1XCW).	57
Imagen 13. Interacciones de: a) acarbosa, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina con el sitio hidrolítico de la subunidad N-terminal de la maltasa-glucoamilasa (PDB: 2qmj).	59
Imagen 14. Interacciones de: a) acarbosa, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina con el sitio hidrolítico de la subunidad C-terminal de la maltasa-glucoamilasa (PDB: 3top).	59

ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADP	Adenosina difosfato
AGL	Ácidos grasos libres
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
CCF	Cromatografía en capa fina
CTG	Curva de tolerancia a glucosa
CTS	Curva de tolerancia a sacarosa
DENID	Diabetes experimental no insulino dependiente
DT1	Diabetes tipo 1
DT2	Diabetes tipo 2
DPP-4	Dipeptidil peptidasa-4
EDT1	Extracto diclorometánico de <i>Tagetes lucida</i>
EHT1	Extracto hexánico de <i>Tagetes lucida</i>
EMT1	Extracto metanólico de <i>Tagetes lucida</i>
GCK	Glucocinasa
GLUT	Transportadores de glucosa
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
K _{ATP}	Canales de potasio dependientes de ATP
PPAR γ	Receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma
RER	Retículo endoplásmico rugoso
RI	Resistencia a insulina
SGLT-1	Cotransportador Sodio Glucosa Tipo 1
TCA	Vía del ácido tricarboxílico
t _{1/2}	Tiempo de vida media

CÓDIGOS

LD1	7-metoxicumarina precipitado
LD2	7-metoxicumarina precipitado
LD3	7-metoxicumarina cristales
LD4	6,7,8-trimetoxicumarina
LD5	6,7-dimetoxicumarina

RESUMEN

Tagetes lucida es una planta medicinal utilizada para tratar síntomas de diversos trastornos gastrointestinales, afectaciones cutáneas y problemas respiratorios, entre otros. Estudios previos han demostrado que los extractos, etanólico e hidroalcohólico, de las partes aéreas de esta planta tienen efecto antihiperoglucémico en ratones normoglucémicos y actividad hipoglucémica en ratas diabetizadas.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antihiperoglucémico y antidiabético de las cumarinas metoxiladas obtenidas del extracto diclorometánico de *T. lucida*, así como la actividad de los extractos hexánico (EHTI), diclorometánico (EDTI) y metanólico (EMTI) de las partes aéreas.

A partir del EDTI se aislaron tres cumarinas, identificadas como 7-metoxicumarina (p.f. 110.5-117.5 °C), 6,7,8-trimetoxicumarina (p.f. 102.6-104.6°C) y 6,7-dimetoxicumarina (p.f. 140.4-143.4°C), mediante resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H) y carbono trece (RMN ¹³C). Todos los compuestos mostraron oposición al pico hiperoglucémico en la prueba de tolerancia a la glucosa, sin tener actividad hipoglucémica; sin embargo, solo la 7-metoxicumarina y la 6,7-dimetoxicumarina tuvieron efecto antihiperoglucémico en la prueba de tolerancia a sacarosa.

Las dos cumarinas con actividad antihiperoglucémica en ambas curvas de tolerancia oral, fueron evaluadas en un ensayo antidiabético agudo utilizando un modelo de diabetes experimental no insulino dependiente, sin embargo, no mostraron efecto significativo.

En el caso de los extractos, EDTI y EMTI presentaron efecto significativo en la prueba de tolerancia a la glucosa, sin embargo, ninguno tuvo actividad antihiperoglucémica en la prueba de sacarosa, ni actividad antidiabética en el ensayo antidiabético agudo. Además, el EDTI no produjo toxicidad aparente en la prueba toxicológica aguda a las dosis evaluadas.

Finalmente, los resultados del modelado *in silico* mostraron afinidad por las enzimas α -glucosidasas, además de otros objetivos implicados en la diabetes. Sin embargo, los ensayos *in vitro* evidenciaron un porcentaje de inhibición no significativo frente a las α -glucosidasas producido por las cumarinas, lo que podría estar relacionado con su baja solubilidad en los vehículos utilizados, por lo que es necesario seguir explorando el efecto de estas con otros

vehículos para establecer si la actividad de estos compuestos está o no relacionada con el control de la glucemia postprandial observado.

ABSTRACT

Tagetes lucida is a medicinal plant used to treat symptoms of gastrointestinal disorders, skin affections, respiratory issues, among others. Previous studies have demonstrated that the ethanolic and hydroalcoholic extracts of the aerial parts of this plant possess an antihyperglycemic effect on normoglycemic mice, and hypoglycemic activity in diabetic rats.

This study aimed to evaluate the antihyperglycemic and antidiabetic effect of the methoxylated coumarins, obtained from the dichloromethanic extract of *T. lucida*, as well as the activity of the hexane (EHTI), dichloromethane (EDTI), and methanol (EMTI) extracts of the aerial parts.

Three coumarins were isolated from the EDTI, samples were sent to H^+ and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance, identifying these compounds as 7-methoxycoumarin (m.p. 110.5-117.5°C), 6,7,8-trimethoxycoumarin (m.p. 102.6-104.6°C), and 6,7-dimethoxycoumarin (m.p. 140.4-143.4°C). All of them showed opposition to the hyperglycemic peak in the glucose tolerance test without having hypoglycemic activity; however, only 7-methoxycoumarin and 6,7-dimethoxycoumarin had antihyperglycemic effect on the sucrose test.

The two coumarins that showed antihyperglycemic activity, in the oral tolerance curves, were evaluated in an acute antidiabetic assay using a model of non-insulin-dependent experimental diabetes, the results revealed a non-significant effect.

In the case of the extracts, only the EDTI and EMTI showed effect in the glucose tolerance test, neither of them had antihyperglycemic activity in the sucrose test or antidiabetic action in the acute antidiabetic assay. In addition, the EDTI did not produce apparent toxicity in the acute toxicological test at the doses evaluated.

Finally, the *in-silico* approach demonstrated some affinity for the α -glucosidase enzymes, as well as for other targets involved in diabetes. Nevertheless, *in vitro* assays evidenced a non-significant percentage of inhibition against α -glucosidases by coumarins, which could be related to the lower solubility of them in the vehicle used, therefore, it is necessary to test the solubility in other vehicles to establish if the antihyperglycemic activity of these compounds is related or not to the postprandial glycemia control.

INTRODUCCIÓN

1.1. Metabolismo y homeostasis de la glucosa

La fuente principal de energía de casi todos los tejidos del cuerpo humano es la glucosa, este carbohidrato proviene principalmente de la dieta, encontrándose en forma de disacáridos, oligosacáridos o polisacáridos que, para poder ser absorbidos y posteriormente metabolizados, deben hidrolizarse a sus unidades monoméricas. En los mamíferos esta acción es catalizada por las α -glucosidasas, enzimas localizadas en el borde del cepillo de la mucosa intestinal (Murray y Harper, 2013).

Una vez que ocurre esta hidrólisis, la absorción de glucosa, a nivel intestinal, es llevada a cabo por los transportadores de sodio-glucosa tipo 1 (SGLT1) y los transportadores de glucosa GLUT-5, que permiten su paso a través de los enterocitos para alcanzar la circulación sistémica. Una vez ocurre este proceso aumenta su concentración en sangre, ante este estímulo, la insulina es secretada de las células β pancreáticas, para permitir el paso de glucosa al interior de diversas células, dentro de las que destacan las del hígado, musculoesqueléticas y adiposas, para ser metabolizada o almacenada (Gutiérrez, 2012).

En los hepatocitos la glucosa es fosforilada por acción de la hexoquinasa, siendo un paso limitante para su metabolismo, ya que una vez fosforilada, la glucosa es incapaz de atravesar la membrana celular para regresar al espacio extracelular. Es así como la glucosa 6-fosfato, producto de esta reacción enzimática, sigue varias rutas metabólicas de acuerdo con las necesidades del organismo (Adeva et al., 2016; González et al., 2014), dentro de las que se incluyen:

- Su metabolismo mediante glucólisis, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa para producir piruvato, NADH y ATP.
- Entrar en la vía de las pentosas-fosfato y formar ribosa para la síntesis de ácidos nucleicos y NADPH.
- Almacenarse en forma de glucógeno (glucogénesis) en el hígado y en el músculo.
- Sintetizar ácidos grasos a partir de Acetil-CoA.

1.2. Insulina; biosíntesis y secreción

Es una hormona polipeptídica secretada por las células β pancreáticas en los islotes de Langerhans. Está compuesta por 51 aminoácidos distribuidos en dos cadenas, A y B, unidas entre sí por puentes disulfuro. Su función principal, en conjunto con la hormona contrarreguladora (glucagón), reside en mantener los niveles de glucosa en ayuno entre 80 - 110 mg/dL y evitar que esta se eleve por arriba de 140 mg/dL después del consumo de alimentos; además, favorece el almacenamiento de la glucosa en el hígado y estimula la captación de glucosa en las células del músculo estriado y los adipocitos, entre otras funciones (González, 2017).

El metabolismo de la glucosa es el principal estímulo para iniciar la transcripción del gen de insulina, el ARNm transcrito es traducido en el retículo endoplasmático rugoso (RER) de las células β pancreáticas, generando preproinsulina como precursor, un polipéptido de 110 aminoácidos que casi inmediatamente es trasladado al lumen del RER donde es cortado por acción de una peptidasa dando origen a la proinsulina (Gardner y Shoback, 2018).

Una vez plegada, la proinsulina se transporta al aparato de Golgi, donde es hidrolizada en insulina y péptido C por acción de la exopeptidasa EC y las endopeptidasas PC2 y PC1/3 (Fu et al., 2013; González, 2017). Ambos productos son almacenados en gránulos dentro de las células β para su posterior secreción (Figura 1).

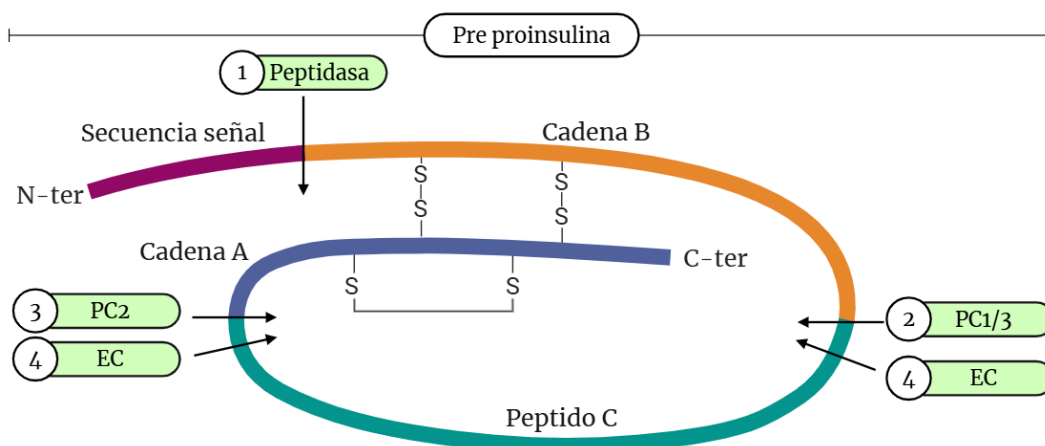


Figura 1. Biosíntesis de la insulina, modificado de González (2017).

El páncreas humano normal secreta ~30 unidades de insulina a la circulación portal a lo largo del día. La distribución de los islotes de Langerhans y la microvasculatura en este tejido favorecen la rápida difusión de insulina hacia el torrente sanguíneo, y permite que las células β censen los cambios en la glucemia, siendo así el metabolismo de la glucosa la principal señal para su secreción (Gardner y Shoback, 2018).

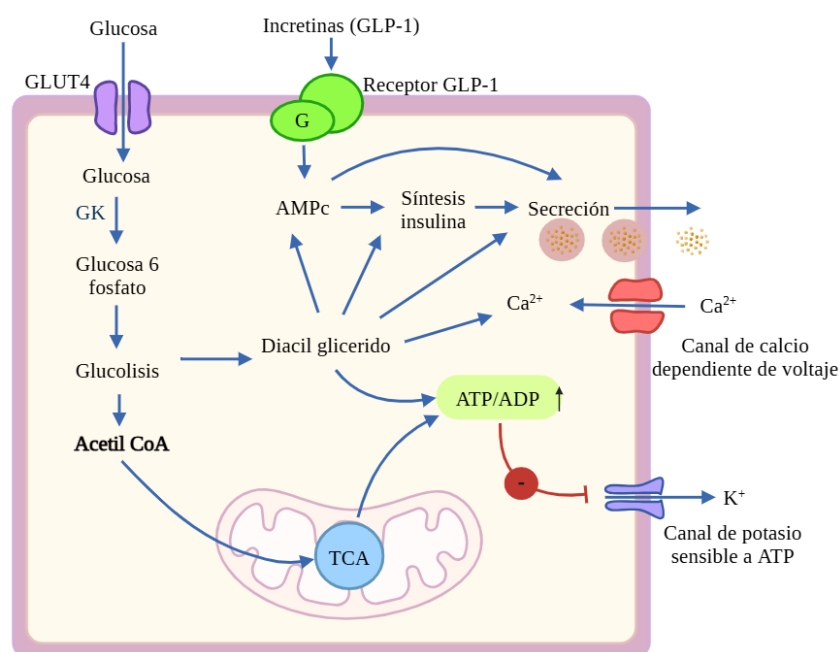


Figura 2. Algunos mecanismos de secreción de insulina, adaptado de Gardner y Shoback (2018). Las flechas azules indican estimulación mientras que las rojas hacen referencia a la inhibición.

Cuando la glucosa ingresa a las células β , a través de los transportadores de glucosa GLUT 2, se fosforila por acción de la glucocinasa (GCK), a partir de este momento inicia su metabolismo, siendo algunos intermediarios y productos mediadores para la señalización tanto de la síntesis como de la secreción de insulina (Figura 2).

De esta manera, la oxidación del piruvato, producto de la glucólisis, por la vía del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), es el principal mecanismo para la liberación de insulina, ya que se incrementa la relación ATP/ADP intracelular, produciendo el cierre de los canales de K⁺ dependientes de ATP (K⁺_{ATP}), se despolariza la membrana plasmática y se abren los canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje, el flujo de Ca²⁺ al interior de la célula y su acumulación estimula la fusión de los gránulos secretorios y la exocitosis de insulina. Otros productos derivados en este ciclo, como el NADPH, la malonil coenzima A y el glutamato, pueden

actuar como mensajeros para la liberación de insulina (Fu et al., 2013). Adicionalmente, existen hormonas gastrointestinales, denominadas incretinas, cuya unión a receptores acoplados a proteína G en la membrana de las células β , aumentan el monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) y que, en presencia de niveles con altos de glucosa, estimulan la secreción de insulina (Rahman et al., 2021).

1.2.1. Mecanismo de acción y vías de señalización

Una vez que la insulina es secretada a la circulación sanguínea, se une a su receptor, una glicoproteína transmembranal con actividad tirosina-cinasa, compuesto por dos subunidades α extracelulares y dos subunidades β orientadas hacia el citoplasma, para ejercer su acción.

Este receptor es expresado en diferentes tejidos del cuerpo, entre ellos el hepático, muscular y adiposo; la unión de dos insulinas a las subunidades α produce un cambio conformacional, seguido de la autofosforilación de las subunidades β , causando la activación de la tirosina cinasa local que fosforila a otras proteínas, entre ellas el grupo: sustratos del receptor de insulina (Hall y Hall, 2021).

Estos sustratos activados reclutan y activan diversas cinasas, fosfatasas y otras moléculas de señalización, de esta manera existen dos vías a través de las cuales se produce el efecto biológico de la insulina: la vía mitogénica que estimula el crecimiento y proliferación celular, y la vía metabólica encargada del metabolismo de los nutrientes (Gardner y Shoback, 2018). Esta última genera la traslocación de los transportadores de glucosa, GLUT-4, desde el interior celular a la membrana plasmática, transportando glucosa a la célula en el tejido muscular y adiposo (Olivares y Arellano, 2008).

Las vías de señalización de la insulina regulan, además, la actividad de numerosos factores de transcripción nuclear, que controlan la expresión de genes involucrados en el crecimiento y metabolismo celular (Gardner y Shoback, 2018); alteraciones en estas vías, así como defectos en la estructura de los receptores, entre otros factores, pueden producir una respuesta inusual a los efectos de esta hormona, desencadenando resistencia a la insulina en los tejidos periféricos.

1.2.2. Resistencia a insulina (RI)

Es definida clásicamente como un estado de descenso en la respuesta de tejidos blanco hacia la concentración normal de insulina en el torrente sanguíneo, esta condición se presenta principalmente en el tejido hepático, adiposo y muscular (Freeman y Pennings, 2022; Kummar et al., 2018; Sesti, 2006) y se manifiesta como:

- ✦ Incapacidad de inhibir la producción endógena de glucosa en el hígado.
- ✦ Falla para suprimir la lipólisis en el tejido adiposo con el consiguiente aumento de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) circulantes, contribuyendo al depósito de grasa en el músculo esquelético e hígado y alterando su metabolismo.
- ✦ Captación anormalmente baja de glucosa y poca síntesis de glucógeno en el músculo esquelético tras la ingesta de alimentos.
- ✦ La concentración de glucosa excede la capacidad del músculo para almacenarla, de manera que esta es captada por el hígado y estimula la lipogénesis de *novo* aumentando los AGL y triglicéridos.

Así mismo, la acumulación de AGL puede interferir con las vías de señalización de insulina, provocando RI.

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la resistencia a insulina, adaptado de Pollak C., 2016 y Cruz, C. 2019.

Criterio de diagnóstico	Valores
Obesidad abdominal	Circunferencia abdominal ≥ 90 cm para hombres y ≥ 80 cm para mujeres
Colesterol HDL bajo	< 40 mg/dl en hombres y < 50 mg/dl en mujeres (o en tratamiento).
Hipertrigliceridemia	Triglicéridos plasmáticos > 150 mg/dl (o en tratamiento).
Hiperglicemia	Glucosa plasmática en ayuno ≥ 100 mg/dl.
Hiperinsulinemia	
<i>Acantosis nigricans</i>	

Desde el punto de vista clínico, la RI se puede evaluar directamente midiendo la capacidad de una dosis fija de esta hormona para promover la captación de glucosa sanguínea total o

indirectamente, puede verificarse midiendo la insulina en ayunas, un aumento de su concentración con glucosa plasmática normal indica RI (Gardner y Shoback, 2018). El diagnóstico se establece a través de manifestaciones clínicas y de laboratorio (Tabla 1).

1.3. Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada por la presencia de hiperglucemia, este estado puede ser ocasionado por la deficiencia funcional de la insulina, la incapacidad de los tejidos de responder a la acción de esta hormona o a su baja producción por parte de las células β pancreáticas. El incremento de las hormonas contrarreguladoras, que se oponen a los efectos de la insulina, también puede jugar un papel importante en esta patología (Funk, 2015).

Debido a que la diabetes es un trastorno metabólico heterogéneo (Kummar et al., 2018), esta puede clasificarse de diferentes maneras, según su etiología, siendo las formas más comunes:

- ✦ Diabetes tipo 1 (DT1); en dónde existe una respuesta autoinmune que provoca la destrucción de las células β generando una deficiencia absoluta de insulina y produciendo hiperglucemia.
- ✦ Diabetes tipo 2 (DT2); ocasionada, principalmente, por la combinación de resistencia periférica a la acción de la insulina y una respuesta secretora inadecuada de las células β pancreáticas.
- ✦ Diabetes gestacional que, por lo general, se genera durante la segunda mitad de la gestación, cuando el cuerpo no puede contrarrestar los efectos de hormonas con actividades antiinsulina contrarreguladoras, secretadas para mantener la normoglucemia. Después del parto, la situación puede normalizarse o continuar con hiperglucemia, y llegar a desarrollar DT2 (Funk, 2015; González et al., 2014).

1.3.1. Epidemiología

En los últimos años las estadísticas han mostrado un incremento notorio en la prevalencia de diabetes (Figura 3), a nivel mundial en 1990 existían 200 millones de personas diagnosticadas con esta enfermedad, cifra que aumentó a 589 millones para el 2024 (IDF, 2025; OMS, 2024). Este incremento se observó con mayor proporción en países de ingresos bajos y medianos,

además, se estima que en el mismo año existieron 251.7 millones de adultos que padecían esta enfermedad, pero no habían sido diagnosticados.

PREVALENCIA MUNDIAL DE DIABETES



Figura 3. Casos de diabetes reportados en el mundo (en millones) a través de los años. Adaptado de IDF, 2025.

De todos los casos reportados, el 90% corresponde a DT2, siendo el grupo de 20 a 79 años el más afectado (Figura 4); sin embargo, en los últimos años la frecuencia de este padecimiento en menores de 18 años ha ido en aumento, siendo Brasil y México, así como ciertos sectores de Estados Unidos y Canadá, aquellos países con mayor prevalencia de DT2 juvenil (IDF, 2025).

De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, en 2024 México registró 14 millones de casos de este padecimiento, con una prevalencia del 16%. Además, en 2021 la diabetes fue la tercera causa de muerte en el país mientras que en 2022 y hasta el 2024 ocupó el segundo sitio. Del total de defunciones por diabetes, el 75.9% correspondió a casos no insulino dependientes (DT2) y 2.8% a DT1 (INEGI, 2021-2025).



Figura 4. IDF, 2025; prevalencia de diabetes en adultos de 20 a 79 años en el 2024.

1.3.2. Fisiopatología de la diabetes tipo 2: no insulino dependiente

Este tipo de diabetes se caracteriza principalmente por la resistencia a la insulina en los tejidos periféricos, sumada a una disfunción de las células β pancreáticas y la inadecuada respuesta compensatoria para la secreción de insulina. Se presenta en dos etapas; un periodo de normoglucemia donde la concentración de glucosa está dentro de los valores normales, pero los procesos fisiopatológicos que conducen a diabetes ya han comenzado y, posteriormente, se desarrolla la fase de hiperglucemia debida a la regulación alterada de la glucosa (ALAD, 2019).

La lesión primaria que conlleva al desarrollo de esta enfermedad no ha sido totalmente identificada; sin embargo, diversos autores refieren que la RI puede ser la primera alteración en aparecer. De esta manera, se plantea que las células β compensan esta condición aumentando la secreción de insulina para mantener la homeostasis de la glucosa, sin embargo, en un momento determinado este estado compensatorio causa agotamiento celular con una consecuente insuficiencia de las células β , llevando al desarrollo de la DT2 (Kummar et al., 2018).

El estado compensatorio presente a inicios de esta patología genera una secreción residual variable de insulina, que evita la hiperglucemia o cetoacidosis grave, adicionalmente, es usual que no se presenten síntomas; sin embargo, cuando estos aparecen suelen ser moderados y pueden incluir polidipsia, poliuria, polifagia, fatiga y visión borrosa. Debido a lo anterior,

algunos pacientes pueden permanecer asintomáticos y ser diagnosticados 5 a 7 años posteriores al inicio real de la enfermedad (Funk, 2015; IDF, 2025).

1.3.2.1. Criterios de diagnóstico

El diagnóstico se efectúa mediante pruebas de laboratorio que miden la concentración de glucosa en sangre o plasma, glucemia, como lo son la glucosa en ayuno, la prueba de tolerancia a glucosa y la hemoglobina glicosilada (HbA1c) (ADA, 2025).

En la ausencia de síntomas el diagnóstico puede hacerse cuando la glucemia en ayuno es igual o mayor a 126 mg/dL ($HbA1c \geq 6.5\%$), en estos casos es esencial tener al menos un resultado adicional igual o mayor a las cifras obtenidas en estas pruebas (Tabla 2) (ALAD, 2019; IDF, 2025).

Tabla 2. Valores de referencia y criterios de diagnóstico de prediabetes y diabetes tipo 2.

	<i>Normal</i>	<i>Prediabetes</i>	<i>Diabetes tipo 2*</i>
<i>Glucosa en ayuno</i>	<100 mg/dL	100 - 125 mg/dL	≥ 126 mg/dL
<i>Glucosa 2h después de una sobrecarga</i>	<140 mg/dL	140 -199 mg/dL	≥ 200 mg/dL
<i>HbA1c</i>	<5.7 %	5.7 - 6.4%	$\geq 6.5\%$

*El diagnóstico de la diabetes tipo dos se confirma cuando se cumple uno o más de los criterios.

Además de estas pruebas, la Federación Internacional de Diabetes considera la presencia de concentraciones de glucosa aleatoria mayores a 200mg/dL, cuando existen síntomas característicos de diabetes, como criterio de diagnóstico.

1.3.2.2. Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico está orientado a disminuir los niveles de glucosa en sangre, así como la sintomatología propia de la enfermedad. El Instituto Mexicano del Seguro Social refiere valores de HbA1C menores al 7 %, glucosa capilar preprandial entre 80-130 mg/dl y glucosa capilar postprandial menor a 180 mg/dl como metas terapéuticas (IMSS, 2014).

El tratamiento de primera línea depende de las comorbilidades y de las necesidades del paciente, generalmente el medicamento por elección es la metformina (ADA, 2025), otros medicamentos utilizados en el tratamiento de la diabetes se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Tratamiento farmacológico de la diabetes tipo dos, adaptado del IMSS, 2018 y Brunton, 2019. (Brunton, 2019)

Grupo farmacológico	Mecanismo de acción	Fármacos	Dosis diaria (mg)
Biguanidas	Activan la cinasa de proteína (AMPK) dependiente de AMP, estimulando la oxidación de los ácidos grasos hepáticos, la captura de glucosa, el metabolismo no oxidativo de glucosa y la reducción de la gluconeogénesis.	Metformina	500-2550
Inhibidores de las α -glucosidasas	Inhiben las α -glucosidasas intestinales, disminuyendo la absorción intestinal de glucosa a partir de almidón, dextrina y disacáridos.	Acarbosa	50-300
Inhibidores de la DPP-4	Inhiben la DPP-4 y evitan la hidrólisis de las incretinas endógenas, aumentando su $t_{1/2}$, la alta concentración de incretinas se asocia al aumento de la secreción de insulina y disminución de glucagón.	Sitagliptina	100
		Vildagliptina	50-100
Sulfonilureas	Su unión al receptor de sulfonilureas en las células β pancreáticas, bloquea los canales de K_{ATP} , causando despolarización de la membrana y la entrada de calcio extracelular, lo que favorece la exocitosis de insulina.	Clorpropamida	250-500
		Glibenclamida	5-20
		Glipizida	5-20

<i>Grupo farmacológico</i>	<i>Mecanismo de acción</i>	<i>Fármacos</i>	<i>Dosis diaria (mg)</i>
Tiazolidinedionas (glitazonas)	Activan los receptores PPAR γ , que se expresan en el tejido adiposo, lo sensibilizan, sensibilizando este tejido, además del tejido muscular y hepático, a los efectos de la insulina.	Pioglitazona	45
		Rosiglitazona	8

El tratamiento inicial puede ser no farmacológico, incluyendo cambios en el estilo de vida del paciente, o farmacológico iniciando con monoterapia; sin embargo, cuando no se cumple con la meta terapéutica, se emplea la politerapia con 2 o más fármacos.

2. ANTECEDENTES

2.1. Medicina tradicional: plantas medicinales

La medicina tradicional y complementaria se define como el conjunto de conocimientos, capacidades y prácticas, basadas en experiencias, teorías o creencias propias de una cultura, que son utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales (OMS, 2013).

Dada la gran diversidad de plantas y su fácil acceso, estas representan la principal materia prima para la práctica de la medicina tradicional. En México, existen alrededor de 4500 plantas medicinales y se ha reportado que aproximadamente el 90% de la población ha optado por el uso de alguna de ellas, para el alivio de enfermedades o los síntomas de condiciones crónicas, como es el caso de la diabetes (SEMARNAT, 2021).

2.2. Generalidades de *Tagetes*

El género *Tagetes* es endémico del continente americano, pero ha sido naturalizado en regiones como Asia, África y Europa (Salehi et al., 2018). Comprende alrededor de 58 especies y se estima que 35 de ellas están presentes en México. Dentro del territorio nacional se distribuyen en diversos climas y suelos, principalmente en regiones montañosas cálido-

templadas, como la Sierra de la Laguna en Baja California Sur, la Sierra Madre del Sur, la Sierra Madre de Chiapas, la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental y el Sistema Volcánico Transversal (Serrato, 2014).

El 10% de las especies de *Tagetes* se usan en la medicina tradicional, dentro de las propiedades que se les atribuyen están: su capacidad antioxidante, antibacteriana, antifúngica y citotóxica. Del mismo modo, se reporta su uso para el alivio de problemas gastrointestinales y respiratorios, así como el uso de *T. erecta* para tratar la diabetes.

Investigaciones previas han demostrado que varias especies de este género, entre ellas *T. patula* y *T. erecta*, tienen efectos hipoglucemiantes. El estudio de los extractos etanólicos de semillas, tallos y hojas de *T. lucida* demostró la capacidad de estos para disminuir las concentraciones de glucosa plasmática, así como incrementar significativamente la concentración de insulina en un modelo animal (Abdel-Haleem et al., 2017).

2.2.1. *Tagetes lucida*

Es una planta perenne nativa de México (Figura 5) y Centroamérica, pertenece a la familia *Asteraceae*. Es conocida comúnmente como pericón, periquillo, hierba santa, cedrón, anisillo y hierba anís, entre otros nombres (CONABIO, 2024; UNAM, 2009). Crece en poblaciones naturales que invaden terrenos de cultivo, no obstante, existen plantaciones de regeneración natural en la región de Ocuilco en Morelos y Teposcolula, Oaxaca (Serrato, 2014).

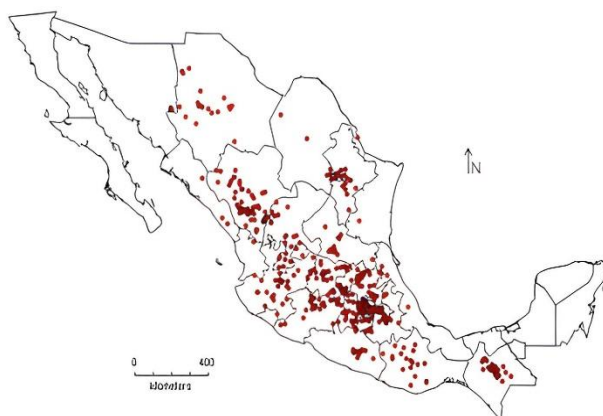


Figura 5. Serrato, 2014; distribución de *Tagetes lucida* en México.

Florece en los meses de septiembre a noviembre, las flores, de color amarillo a naranja, tienen de 3 a 4 pétalos de forma ligulada y de 5 a 8 corolas de 4 - 6 mm de largo en el disco. Cuando estas flores son sometidas a fricción, se percibe un olor similar al anís (CONABIO, 2024). Generalmente tiene varios tallos, partiendo de la base, ligeramente ramificados y pueden llegar a medir hasta 80 cm de altura, tiene hojas verdes de forma linear a oblarga, con margen aserrado que despiden un olor agradable (Imagen 1) (García-Sánchez, 2012).



Imagen 1. CONABIO; *Tagetes lucida silvestre*, forma característica de las hojas y flores.

2.2.2. Antecedentes etnomédicos

En la época prehispánica el pericón fue considerado sagrado dentro de las culturas náhuatl y maya, se le atribuyeron gran cantidad de propiedades mítico-religiosas, así como dentro de la medicina tradicional; de estas destaca el uso de preparados hidroalcohólicos e infusiones para tratar enfermedades gastrointestinales, fiebre, relajante, para curar la tristeza y también para afecciones de la piel como las picaduras de insectos (Chávez-Mejía et al., 2018; Salehi et al., 2018), existen registros de su uso desde el siglo XVI.

En la actualidad, su uso en la medicina tradicional se distribuye en varios estados de la República Mexicana (Figura 6). La administración oral de infusiones o decocciones de las flores frescas o de las partes aéreas, es utilizada para tratar trastornos digestivos, como dolores de estómago y cólicos, así como para la diarrea, disentería, empacho, tifoidea, vómito, asma, agitación mental, e infecciones causadas por parásitos (UNAM, 2009; Ventura-Martínez et al., 2020).



Figura 6. UNAM, 2009; áreas de uso de *T. lucida* en México

2.2.3. Composición fitoquímica

Se conoce que los extractos de esta planta contienen una amplia gama de metabolitos secundarios, que le brindan sus actividades biológicas. Entre estos destacan compuestos fenólicos como taninos, leucoantocianinas, ácidos fenólicos y flavonoides como quercetina, quercetanegina y patuletina (Gutiérrez-Gaitén et al., 2018).

Dentro del género *Tagetes* las cumarinas se encuentran ampliamente distribuidas, en esta especie se ha reportado: dimetilalil éter de 7-hidroxicumarina, 6,7,8- trimetoxicumarina, 7,8-dihidroxicumarina, 7-hidroxicumarina (umbeliferona), 6,7-dimetoxicumarina (escoparona), 6,7-dihidroxicumarina (esculetina), 6-hidroxi-7-metoxicumarina, 7-metoxicumarina (herniarina) y 6-metoxi-7-hidroxicumarina (escopoletina). Investigaciones han descrito que estos compuestos, así como los flavonoides, tienen actividad antiinflamatoria, antioxidante, antiviral y antiagregante plaquetaria (Céspedes et al., 2006).

2.3. Cumarinas

Se trata de metabolitos secundarios derivados lactónicos del ácido cinámico, ampliamente distribuidos dentro del reino vegetal, principalmente en familias como las Rutáceas, Fabáceas, Rubiáceas, Asteráceas, Umbelíferas, Apocináceas y Compuestas (Dewick, 2009).

El núcleo base consiste en un benceno fusionado a un anillo de α -pirona, de acuerdo con su estructura se clasifican en seis grupos (Figura 7), se caracterizan por poseer una variedad de patrones de oxigenación sobre el núcleo, siendo la posición C-7 la más sustituida entre las cumarinas naturales (Figuerola, 2018; Venugopala et al., 2013).

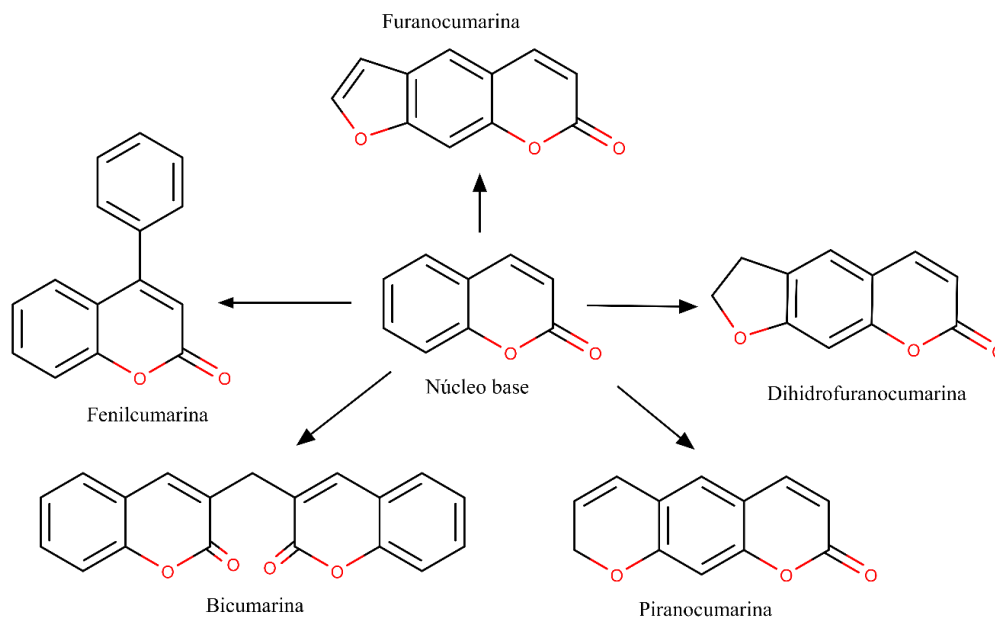


Figura 7. Tipos de cumarinas naturales.

2.3.1. Actividad biológica

Algunas cumarinas, como la warfarina, se usan en la terapia de enfermedades cardiovasculares por su acción anticoagulante y antitrombótica. Además de estos efectos se ha observado que este tipo de compuestos pueden presentar propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antivirales, antiinflamatorias y anticancerígenas (Li et al., 2017; Pan et al., 2022; Venugopala et al., 2013).

Diversos estudios han evaluado sus efectos sobre el control glicémico (Tabla 4), observando que cumarinas simples como la escopoletina, esculina, umbeliferona, el núcleo base, así como sus derivados, son capaces de reducir los niveles de glucosa plasmática y la concentración de hemoglobina glicosilada, revirtiendo el daño causado a las células pancreáticas y mejorando las vías de señalización de la insulina (Li et al., 2017). Se ha

descrito que la escopoletina y cumarinas 3,4 y 3,6 disustituidas, poseen acción inhibitoria sobre las α -glucosidasas, teniendo así un efecto sobre el control glucémico postprandial (Figueroa, 2018).

Tabla 4. Actividad sobre el control glucémico, así como otros efectos de algunas cumarinas simples.

Compuesto	Antecedentes	Referencia
Cumarina	Disminución de la glucosa plasmática y hemoglobina glucosilada con aumento de insulina, mecanismo secretagogo.	(Pari y Rajarajeswari, 2009)
Umbeliferona	Actividad antioxidante y antitumoral Reducción de HbA1c y glucosa plasmática con aumento de insulina en ratas diabetizadas.	(Ramesh y Pugalendi, 2006)
Esculetina	Aumenta la expresión de enzimas antioxidantes y reduce marcadores de estrés oxidativo. Reduce la glucemia y aumenta la concentración de insulina en diversos modelos diabéticos. Inhibe las α -glucosidasas de levadura.	(Kang et al., 2014; Nurul-Islam et al., 2013; Prabakaran y Ashokkumar, 2013)
Escopoletina	Actividad antiinflamatoria y hepatoprotectora. Reduce la glucemia postprandial Inhibe α -glucosidasas	(Gao et al., 2024; Jang et al., 2018)
Aurapteno	Antihipertensivo, incrementa la concentración de NO. Agonista de PPAR- α , reduce la acumulación de triglicéridos y mejora el perfil lipídico. Mejora la tolerancia a glucosa y el metabolismo alterado de esta en un modelo murino de obesidad y diabetes.	(Razavi et al., 2014; Takahashi et al., 2011)

3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes es un problema de salud pública a nivel mundial, con una tasa de mortalidad elevada; siendo de las principales causas de muerte en México. De todos los casos registrados, el 90% corresponde a DT2 que, a pesar de afectar principalmente a adultos, ha tenido una incidencia creciente en la población infantil y juvenil.

Dado que es una condición crónica, el tratamiento farmacológico prolongado puede generar tolerancia a los medicamentos utilizados para tratar sus síntomas, aunado a esto, los efectos adversos que se presentan por los fármacos, así como la baja adherencia al tratamiento por el paciente, pueden impedir alcanzar la meta terapéutica. Además del reto que representa dentro del sistema de salud, también existe uno en el sector económico, ya que, en 2022, generó un impacto de \$50,619 millones de pesos solo para el Instituto Mexicano del Seguro Social. Debido a esto, la búsqueda de moléculas con potencial antidiabético sigue siendo una necesidad.

Las plantas medicinales son una fuente para obtener compuestos con diferentes efectos biológicos, sin embargo, a pesar de su amplio uso aún se requieren investigaciones que sustenten los efectos atribuidos. Dentro del género *Tagetes* las cumarinas están ampliamente distribuidas, estudios previos han demostrado que algunos de estos compuestos presentan actividad antihiper glucémica e inhibitoria sobre α -glucosidasas.

En este contexto, se pretende evaluar y determinar el efecto antidiabético de cumarinas presentes en *Tagetes lucida*, para generar información que permita establecerla como potencial fuente de compuestos con actividad antidiabética.

4. HIPÓTESIS

Las cumarinas aisladas a partir de *Tagetes lucida* presentarán efectos antihiper glucémicos postprandiales y antidiabéticos.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos antidiabéticos y antihiper glucémicos de cumarinas aisladas de *Tagetes lucida* y establecer sus posibles mecanismos de acción a través de modelos *in vivo*, *in silico* y/o *in vitro*.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- ✦ Evaluar el efecto antihiper glucémico de los extractos hexánico, diclorometánico y metanólico de *Tagetes lucida*.
- ✦ Obtener y caracterizar las cumarinas presentes en el extracto más activo con diferentes técnicas cromatográficas.
- ✦ Determinar el efecto antihiper glucémico de las cumarinas mediante pruebas de tolerancia a la glucosa y sacarosa.
- ✦ Verificar el efecto inhibitorio de las cumarinas sobre las α -glucosidasas.
- ✦ Determinar el efecto antidiabético a través de ensayos agudos en un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente.

7. METODOLOGÍA

7.1. Obtención de los extractos

La especie vegetal de *Tagetes lucida* fue recolectada por el equipo del Dr. Samuel Estrada, del laboratorio 10 de la Facultad de Farmacia, en Cuernavaca, Morelos, en la colonia Santa María Ahuacatitlán, a finales de octubre de 2020.

El material vegetal íntegro y seco fue sometido a molienda para disminuir su tamaño de partícula, posteriormente, se pesaron 596 g que se maceraron de manera exhaustiva en periodos de 72 h por triplicado, con disolventes en orden creciente de polaridad: hexano, diclorometano y metanol.

Al término de cada periodo se filtró y eliminó el disolvente a presión reducida utilizando un rotavapor, obteniendo así los extractos hexánico (EHTI), diclorometánico (EDTI) y metanólico (EMTI).

7.2. Comparación fitoquímica

Para comparar la composición fitoquímica se realizó cromatografía en capa fina (CCF), la elución se llevó a cabo con un sistema 65:35 hexano:acetato de etilo. Las placas se revelaron a longitudes de onda corta y larga con una lámpara UV.

Además, se realizó CCF utilizando como control la 6,7,8-trimetoxicumarina (JM1), 7-metoxicumarina (AH-5), 7-preniloxicumarina (AH-4) y 6,7-dimetoxicumarina (JM-2), compuestos aislados y purificados a partir de *Tagetes lucida* en investigaciones previas e identificados mediante RMN y/o difracción de rayos X.

7.3. Cromatografía en columna

Para aislar las cumarinas presentes en *T. lucida* 19.5 g del extracto diclorometánico se sometió a un fraccionamiento primario utilizando cromatografía en columna abierta, utilizando sílica gel como fase estacionaria y como fase móvil una mezcla de disolventes en

gradiente de polaridad (Hexano, Hexano:Diclorometano, Diclorometano:Metanol y metanol).

Se realizó un monitoreo mediante CCF, utilizando reveladores químicos (vainillina, sulfato cérico y H_2SO_4 al 10%) y reveladores físicos (luz UV), para agrupar las fracciones de acuerdo con su similitud cromatográfica.

A partir de la fracción 157 y hasta la 222 se obtuvo un precipitado color blanco (LD1, LD2) que fue lavado con hexano y posteriormente disuelto en diclorometano, obteniendo así cristales (LD3) con los cuales se realizó cromatografía en capa fina utilizando como referencia la 6,7-dimetoxicumarina, 7-metoxicumarina y 7-preniloxicumarina.

Tras agrupar las fracciones 275-302 se obtuvo un precipitado (LD-4) al agregar hexano a la solución de diclorometano, a partir de la fracción 303 y hasta la fracción 638 se precipitó otro compuesto (LD5) utilizando el mismo método, tras varios lavados se utilizó CCF para comparar todos los compuestos aislados con las cumarinas de referencia.

7.4. Elucidación estructural

La elucidación estructural de los compuestos se realizó mediante RMN- ^1H y ^{13}C , con la ayuda del Dr. Jaime Escalante García, del Centro de Investigaciones Químicas, de la UAEM.

El análisis de los espectros confirmó que los compuestos aislados correspondían a 7-metoxicumarina (LD3), 6,7,8-trimetoxicumarina (LD4) y 6,7-dimetoxicumarina (LD5).

7.5. Evaluación farmacológica

7.5.1. Animales

Para las curvas de tolerancia a glucosa y a sacarosa, así como los ensayos antidiabéticos, se usaron ratones macho de la cepa CD1, para el caso de la extracción de las enzimas α -glucosidasas se ocuparon ratas macho de la cepa Wistar. El manejo de los animales se realizó

bajo las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-066-Zoo-1999-Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

7.5.2. Curva de tolerancia oral a glucosa y a sacarosa: extractos

Las curvas de tolerancia a glucosa (CTG) y a sacarosa (CTS) se utilizaron ratones normoglucémicos, previo al estudio los modelos fueron sometidos a un ayuno de 16 h, con libre acceso a agua, se consideraron los grupos de estudio (n = 7): 1) vehículo, 2) control positivo; glibenclamida para CTG y acarbosa para CTS, 3) extracto a evaluar de *T. lucida*.

Los ratones se pesaron para determinar la cantidad de vehículo, glibenclamida (5 mg/kg), acarbosa (5 mg/kg) o extractos (100 mg/kg) a administrar, posteriormente, se midió la glucemia al tiempo cero (G_0) mediante punción capilar, utilizando tiras reactivas y un glucómetro Accu-Check®, modelo Performa (Roche).

Tras la toma de la glucosa en ayuno, se administró la muestra de prueba a cada grupo por vía intragástrica (i.g.), 30 minutos después se administró una carga de glucosa o sacarosa (2g/kg), según el ensayo, por vía i.g., midiendo la glucemia a los 30, 60, 120 y 180 minutos.

El porcentaje de variación de glucosa se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Variación de glucosa} = \frac{(G_x - G_0)}{G_0} * 100$$

Con base en los gráficos obtenidos se seleccionaron los extractos a evaluar en el ensayo antidiabético agudo.

7.5.3. Modelo de diabetes no insulino dependiente

Para generar el modelo de diabetes experimental no insulino dependiente y determinar el efecto antidiabético de los extractos, se administró a ratones macho de la cepa CD1, previo ayuno de 16h, 20 mg/kg de nicotinamida disuelta en agua destilada por vía intraperitoneal (i.p.), seguida de 100 mg/kg de estreptozotocina (i.p.) disuelta en buffer de citratos pH 4.5, transcurridos 15 minutos de la primera administración. La glucemia se midió dos semanas

después por punción capilar, los ratones con glucemia superior a 140 mg/dL fueron considerados para la siguiente fase del estudio.

7.5.3.1. Ensayo antidiabético agudo: extractos

Los ratones diabetizados, con glucosas superiores a 140 mg/dl tras 4 horas de ayuno, se pesaron para determinar la cantidad de muestra a administrar (vía i.g.) del extracto más activo (100 mg/kg), glibenclamida (5 mg/kg) y vehículo (tween 80 al 10%), según el grupo al que pertenecían (n=7). La glucemia fue monitoreada a las 1, 3, 5 y 7 horas posteriores a la administración.

Los datos obtenidos se analizaron de la misma manera que en las CTG y CTS.

7.5.4. Ensayo toxicológico agudo del extracto diclorometánico (EDTI)

Para determinar la toxicidad aguda del EDTI se realizó el ensayo de acuerdo con la guía 423 de la OECD, con dosis de prueba de 300 mg/kg y 700 mg/kg. El monitoreo de los animales se realizó durante 14 días, poniendo especial atención en las primeras 4 h tras la administración. Se monitoreó también el peso de los animales utilizados en el ensayo.

7.5.5. Curva de tolerancia a glucosa y a sacarosa: cumarinas

Una vez identificadas y purificadas las cumarinas aisladas a partir del EDTI, se evaluó su potencial efecto antihiper glucémico utilizando ratones macho normoglucémicos de la cepa CD1 y siguiendo con la metodología antes descrita para evaluar los extractos. En este caso, la dosis de compuesto administrado fue de 50 mg/kg.

Los datos se procesaron de la misma manera, una vez disponibles los resultados, se seleccionaron las cumarinas más activas para la siguiente fase del estudio.

7.5.6. Evaluación del efecto antidiabético: cumarinas

La 7-metoxicumarina y la 6,7-dimetoxicumarina se evaluaron en un ensayo antidiabético agudo, a una dosis de 50 mg/kg, en un modelo DENID de acuerdo con la metodología antes descrita. Los datos se analizaron de igual manera y la construcción de las gráficas se hizo con el programa GraphPad Prism versión 8.

7.5.7. Inhibición de las α -glucosidasas

7.5.7.1. Reactivos y equipo

Los reactivos para la preparación de la solución amortiguadora fueron obtenidos de Productos Químicos Monterrey S.A. (NaH_2PO_4) y de CTR Scientific (Na_2HPO_4), mientras que la 6,7-dihidroxycumarina utilizada como control fue obtenida de Sigma Aldrich, para la acarbosa se emplearon tabletas comercializadas por laboratorios Alpharma S.A. de C.V.

Para los lavados intestinales se emplearon solución salina y ampicilina comerciales, distribuidos por PISA laboratorios S.A. de C.V., el almidón se consiguió con proveedores locales.

Finalmente, la cuantificación de glucosa se realizó con el uso de un kit de Glucosa oxidasa GOD-POD SpinReact, para la lectura de la absorbancia se utilizó un lector de microplacas Epoch BioTek.

7.5.7.2. Extracción de las enzimas

Para obtener las enzimas se emplearon ratas de la cepa Wistar que fueron eutanizadas para posteriormente diseccionar el intestino delgado por incisión abdominal, se retiró el tejido adiposo del intestino y se fragmentó en segmentos de 10 cm, aproximadamente, para facilitar los lavados.

Cada segmento se lavó con una solución salina al 0.9%, buffer de fosfato de sodio 0.1 M pH 7 y ampicilina 5 mg/mL. Una vez realizado este procedimiento, los segmentos se cortaron

longitudinalmente para exponer la parte interna del intestino. Sobre un vidrio en baño de hielo se realizó el raspado de la mucosa, se colocó en crioviales y se homogeneizó con ayuda de un vortex, finalmente, se almacenó a -20°C hasta su uso.

7.5.7.3. Reacción enzimática y cuantificación de la glucosa liberada

Se prepararon stocks de las cumarinas a evaluar a una concentración de 1 mg/mL y 5 mg/mL en DMSO al 10% como disolvente. El ensayo de inhibición de los compuestos se evaluó utilizando almidón de maíz (12.5 mg/mL) como sustrato, solución buffer de fosfato de sodio 0.1 M pH 7 y las cumarinas a evaluar (0.1 mg/mL y 0.5 mg/mL), en un volumen final de 235 µL. La reacción se inició al agregar 50 µl de enzima, manteniendo en incubación (37°C) por 10 minutos y se detuvo tras adicionar 5 µl de acarbosa (5 µg/mL) y colocar los tubos de reacción en un baño de hielo.

Se incluyeron como controles positivos: acarbosa a una concentración de 5 mg/mL en el tubo de reacción, así como también esculetina a la misma concentración que las cumarinas metoxiladas. En todos los casos la reacción se ejecutó por cuatuplicado.

Para cuantificar la glucosa liberada se utilizó el kit comercial de glucosa oxidasa (GOD-POD), de acuerdo con las especificaciones del fabricante en una microplaca de 96 pocillos, leyendo en un espectrofotómetro para microplacas a 505 y 680nm.

Adicionalmente, el ensayo se replicó con sacarosa (12.25 mg/mL) como sustrato y las cumarinas a una concentración de 0.1 mg/mL.

7.6. Evaluaciones *in silico*

7.6.1. Predicción de la toxicidad

Con el código SMILES se realizó la predicción de toxicidad de las cumarinas metoxiladas y la 6,7-dihidroxicumarina, en ProTox 3.0, un servidor que por similitud estructural ofrece

información sobre la toxicidad oral en roedores, así como también sobre diferentes órganos y sistemas. Se consideró, además, la probabilidad de los compuestos para inhibir al citocromo P450, usando el servidor antes mencionado, así como ADMETlab 3.0 que, a partir de una base de datos, realiza las predicciones.

7.6.2. Acoplamiento molecular

Con el servidor DIA-DB, que recopila diferentes estructuras proteicas del Protein Data Bank (PDB) involucradas en la diabetes (Pérez-Sánchez, et al., 2020), se determinaron algunos blancos sobre los que las cumarinas aisladas pudiesen tener afinidad, para posteriormente ejecutar el acoplamiento molecular dirigido.

Las estructuras cristalográficas (Tabla 5) se obtuvieron del PDB y las estructuras de las cumarinas de PubChem, posteriormente se realizó la preparación de las proteínas y ligandos con el programa AutoDock Tools 1.5.7 y se determinaron las condiciones del acoplamiento para cada blanco.

Tabla 5. Estructuras cristalográficas utilizadas en el acoplamiento molecular

<i>Proteína</i>	<i>Código PDB</i>
Receptor activado por proliferadores peroxisomales (PPAR _γ)	1RPG
Dieptidil peptidasa IV	6B1E
Amilasa pancreática	1XCW
Maltasa-Glucoamilasa región N-terminal	2QMJ
Maltasa-Glucoamilasa región C-terminal	3TOP

Se ejecutaron 100 acoplamientos dirigidos de manera individual, para cada ligando, con AutoDock Vina, los resultados se visualizaron en Discovery Studio y se determinaron las interacciones ligando-proteína.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Rendimiento de los extractos y comparación fitoquímica

A partir de 596 g del material vegetal y por maceración exhaustiva en orden de polaridad, se obtuvieron los rendimientos mostrados en la tabla 6.

Se han identificado diferentes compuestos en *T. lucida*, existiendo variación en el contenido de los extractos o aceites esenciales dependiendo del método de extracción utilizado. Dentro de los componentes lipofílicos se encuentran fenilpropenos y terpenos, siendo el estragol el más abundante (97.3%), además de β -cariofileno, limoneno, β -ocimeno y mirceno, entre otros (Salehi, et al., 2018; Domínguez-García, et al., 2023), debido al uso de maceración con hexano, la extracción de compuestos de este tipo pudo verse comprometida, ya que estos han sido identificados en los aceites esenciales de *T. lucida* obtenidos mediante destilación por arrastre de vapor.

Tabla 6. Rendimiento de los extractos obtenidos de *T. lucida*

Extracto	Peso (g)	Rendimiento (%)
Hexánico (EHTI)	0.918	0.179
Diclorometánico (EDTI)	21.326	4.167
Metanólico (EMTI)	40.8178	7.827

Otros compuestos identificados en los extractos etanólicos y hexánicos de partes aéreas pertenecen a alcaloides cuaternarios, saponinas, taninos, leuco-antocianinas, cumarinas (7-preniloxicumarina, 7-metoxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y 6-metoxi-7-preniloxicumarina) (Dominguez-García et al., 2022; Mundo-Campuzano, 2023; Monterrosas-Brisson et al., 2019), además de fenoles y flavonoides llegando a tener un contenido total de 188.86 ± 15.73 mg EAG/g y 157.99 ± 8.61 mg EQ/g, respectivamente, en extractos etanólicos (Gamero-Enriquez, 2025), este contenido de compuestos de carácter polar puede influir en el alto rendimiento de los extractos macerados con solventes de mediana y alta polaridad (diclorometano y metanol).

Para conocer la composición fitoquímica de los extractos de manera cualitativa, se realizó cromatografía en capa fina utilizando una fase móvil de 65:35 hexano:acetato de etilo. En las tres extracciones se apreciaban las cumarinas (Imagen 2), compuestos con fluorescencia

característica azul al exponerse a la luz UV (Frías-Zepeda y Rosales-Castro, 2023). De esta manera, se compararon los extractos con compuestos de este tipo que fueron aislados e identificados en un proyecto previo del laboratorio 10 (Imagen 3).

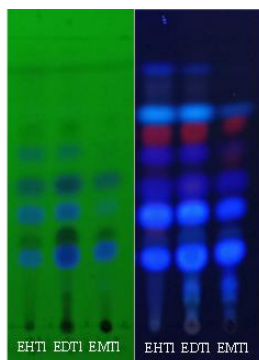


Imagen 2. Extracto hexánico, diclorometánico y metanólico, longitud de onda corta (izq.) y larga (der.).

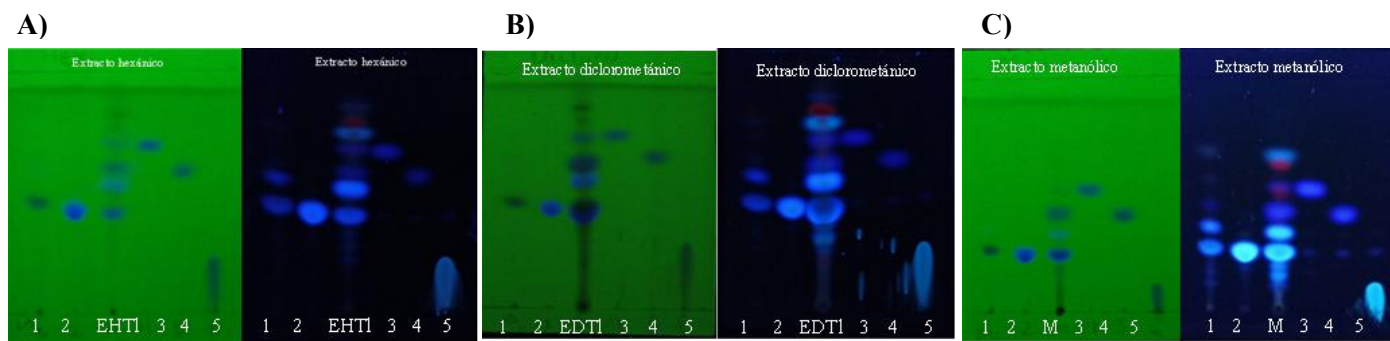
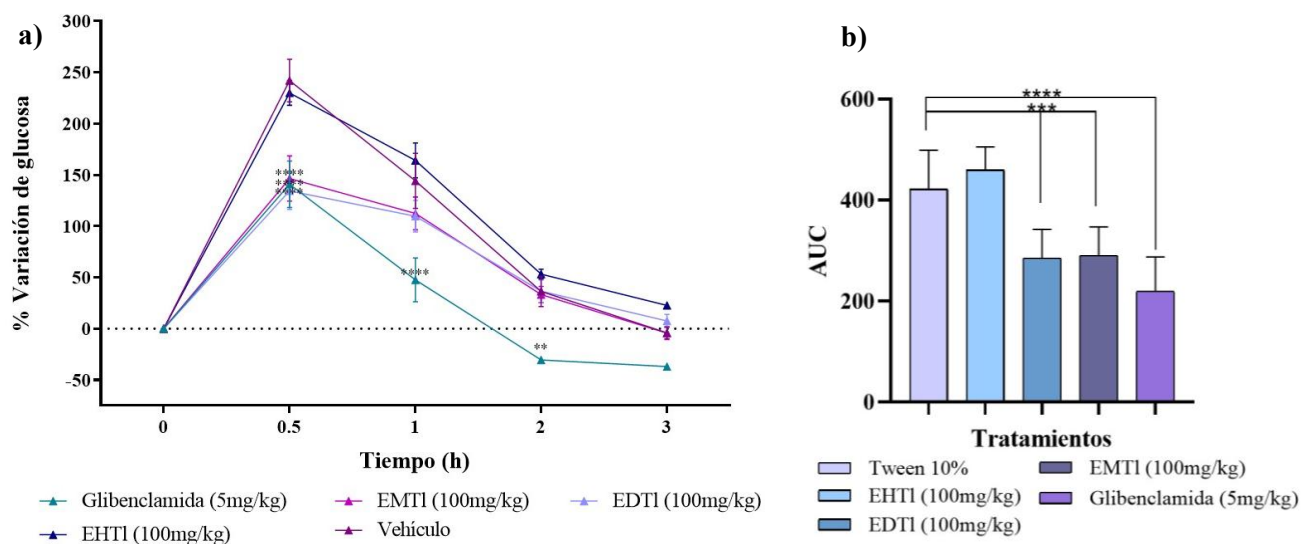


Imagen 3. Extractos: A) hexánico (EHTI), B) diclorometánico (EDTI) y C) Metanólico (M), comparados con 6,7,8-trimetoxicumarina (1), 6,7-dimetoxicumarina (2), 7-preniloxicumarina (3), 7-metoxicumarina (4) y 6,7-dihidroxycumarina (5). Longitud de onda corta (izq.) y larga (der.).

8.2. Evaluaciones *in vivo*: extractos

8.2.1. Curva de tolerancia oral a glucosa

Como parte del ensayo, los extractos se evaluaron en ratones normoglucémicos; esta prueba permitió observar el patrón de variación de la concentración de glucosa, tras la administración del extracto y una sobrecarga de esta.

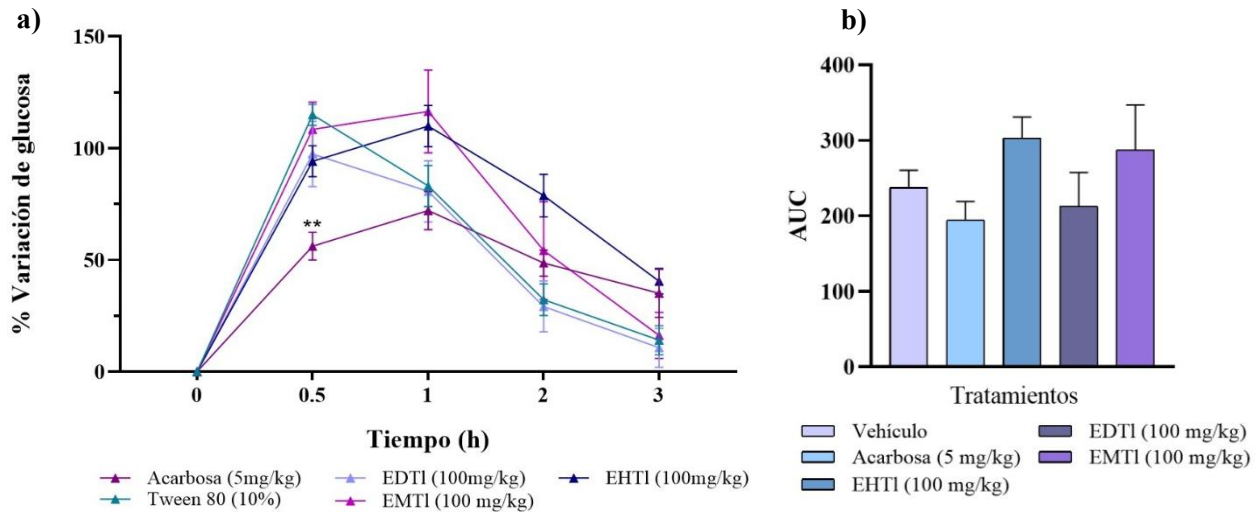


Gráfica 1. a) Comparación del efecto antihiper glucémico en ratones normo glucémicos de los extractos de *T. lucida*. ANOVA de dos vías, prueba post hoc de Tuckey *** $p < 0.001$, ** $p < 0.0021$ vs. vehículo. b) Area bajo la curva del efecto generado por los extractos, ANOVA de una vía, prueba post hoc de Dunnet **** $p < 0.0001$ y *** $p < 0.001$.

La gráfica 1 muestra que los extractos diclorometánico (EDTI) y metanólico (EMTI) presentan diferencia significativa ($p < 0.001$) frente al vehículo en la primera media hora, disminuyendo el pico hiperglucémico, así, podrían actuar impidiendo la absorción de glucosa a través del bloqueo de los cotransportadores de sodio-glucosa 1 (SGLT1), presentes en la membrana apical de los enterocitos, y/o de los transportadores de glucosa GLUT2 de la membrana basolateral (Chen et al., 2015). A su vez, el efecto puede estar relacionado con el aumento en la sensibilidad a la insulina debido a que la administración de los extractos ocurrió media hora antes de la sobrecarga de glucosa (Chávez-Silva, 2019).

8.2.2. Curva de tolerancia oral a sacarosa

Ensayos previos describen que el extracto etanólico de esta planta presenta un efecto antihiper glucémico después de la administración de una sobrecarga de sacarosa a ratas normoglucémicas, mismo que podría relacionarse con la inhibición de α -glucosidasas (Mundo-Campuzano, 2023), enzimas que hidrolizan el enlace glucosídico en este disacárido para liberar y permitir la absorción de glucosa.



Gráfica 1. Curva de tolerancia sacarosa, comparación del efecto antihiper glucémico de los extractos de *T. lucida*. En ratones normo glucémicos (n=7). ANOVA de dos vías, prueba post hoc de Tuckey **p < 0.0021 vs. vehículo (tween 80 al 10%). b) Área bajo la curva del efecto generado por los extractos, ANOVA de una vía prueba post hoc de Dunnet (p > 0.05).

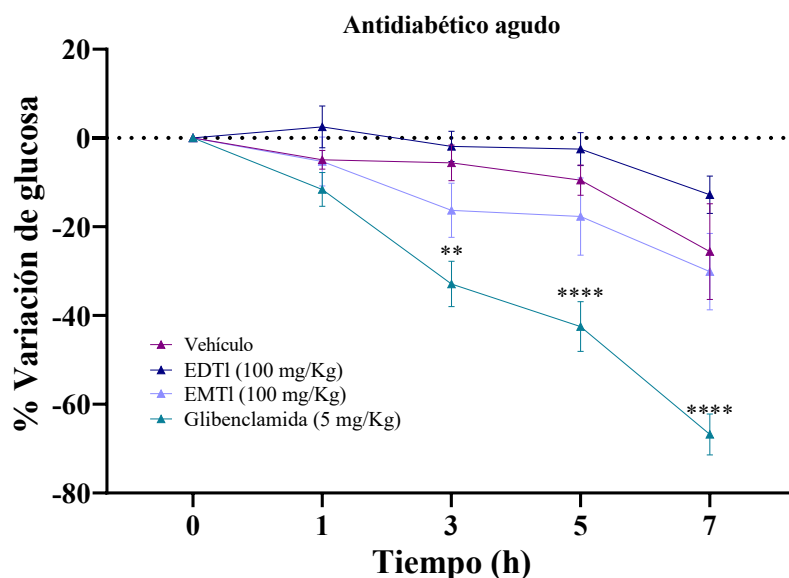
Por lo que, para determinar si los extractos orgánicos ejercen este mecanismo extrapancreático, se realizó la CTS (Gráfica 2). A pesar de que se observa una ligera oposición al pico hiper glucémico (0.5 h) por EDTl y EDTl, esta no fue estadísticamente significativa, por lo que en ningún caso hubo actividad en este ensayo.

8.2.3. Ensayo antidiabético agudo de EDTl y EMTl

Dado que los extractos diclorometánico y metanólico tuvieron efecto antihiper glucémico en la curva de tolerancia a glucosa, se decidió evaluar su posible efecto agudo en un modelo de diabetes experimental no insulino dependiente (Gráfica 3).

No se observó actividad hipoglucémica con los extractos evaluados, a pesar de existir una ligera disminución en la variación de glucosa, este comportamiento fue igual al del grupo administrado con el vehículo ($p > 0.05$). Si bien Abdel-Haleem y colaboradores (2017) refieren esta actividad en el extracto etanólico de *T. lucida* este grupo de trabajo realizó la extracción a partir de planta cultivada en una zona con condiciones climáticas diferentes, factores que influyen en el contenido metabólico de la especie vegetal, sumado a esto, la administración del extracto se realizó durante cinco semanas, mientras que, en este caso, la administración fue aguda, estas diferencias pudieron repercutir en el efecto observado.

Considerando que existió un efecto en la CTG, la actividad de estos extractos puede relacionarse con el control de la glucosa postprandial y/o la sensibilización a insulina, ya que se redujo considerablemente la absorción de glucosa.



Gráfica 2. Ensayo antidiabético agudo en un modelo DENID, comparación del extracto diclorometánico (EDTI) y metanólico (EMTI) de *T. lucida*, ANOVA de dos vías, prueba post hoc de Tuckey **** $p < 0.0001$, ** $p < 0.0021$ vs. vehículo (Tween 80 al 10%).

8.2.4. Ensayo toxicológico agudo del extracto diclorometánico (EDTI)

Debido a que el extracto EDTI fue activo en la CTG y seleccionado para fraccionarlo, se realizó el ensayo toxicológico agudo de este. De acuerdo con la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE), la toxicidad aguda se define como: los

efectos adversos que se producen tras la administración oral de una sustancia en una dosis única o múltiple en un intervalo no mayor a 24 horas.

Tabla 7. Ensayo toxicológico agudo en ratones macho de la cepa CD1 (grupos con n=3)

Dosis (mg/kg)	Observaciones	Inicio de los efectos	Fin de los efectos
300	Disminución en la actividad y somnolencia. Hubo respiración agitada en la primera hora. De manera gradual se desplazaron con movimientos lentos, hasta recuperar su comportamiento normal.	Antes de los 5 min tras la administración	1h después de la administración
700	Disminución del movimiento hasta llegar a estado hipnótico. La respiración se volvió lenta y pausada, con algunos espasmos.	Desde el primer minuto tras la administración	3h después de la administración

Debido a la solubilidad del extracto se evaluaron únicamente las dosis de la tabla 7, en ninguno de los casos se presentaron decesos en los grupos de estudio, a su vez, no existió diferencia en los pesos, y tampoco se observó un cambio en el comportamiento en los días posteriores a la administración del extracto.

De esta manera se sugiere que la dosis tóxica es mayor a 700 mg/kg, considerando los antecedentes de los extractos etanólico y acuoso de *T. lucida*, que los catalogan dentro de la categoría 4 de SGA ($DL_{50} \approx 500$ mg/kg, i.g.) o con una DL_{50} : 2,000 mg/kg (i.p), respectivamente, (Mundo-Campuzano, 2023; Pérez-Ortega et al., 2016) el EDTI podría clasificarse dentro de la categoría 4 del Sistema Globalmente Armonizado.

8.3. Cromatografía en columna

A partir de la columna se obtuvieron un total de 898 fracciones (Tabla 8) que fueron agrupadas por similitud cromatográfica realizando CCF con sistemas 9:1 CH_2Cl_2 :AcEt y 7:2:1 CH_2Cl_2 :Hex:AcEt, finalizando así con 9 fracciones primarias (Figura 8).

Tabla 8. Fracciones finales obtenidas por cromatografía en columna

Polaridad de la fase (Hex:CH ₂ Cl ₂ :MetOH)	Fracciones agrupadas	Código de la fracción final
100:0:0 90:10:0	1-79	F1
90:10:0 70:30:0	80-156	F2
70:30:0	157-222	F3
70:30:0 65:35:0	223-250	F4
65:35:0	251-274	F5
65:35:0	275-302	F6
35:35:0 55:45:0	303-638	F7
55:45:0 0:80:20	639-862	F8
0:80:20 0:0:100	863-898	F9

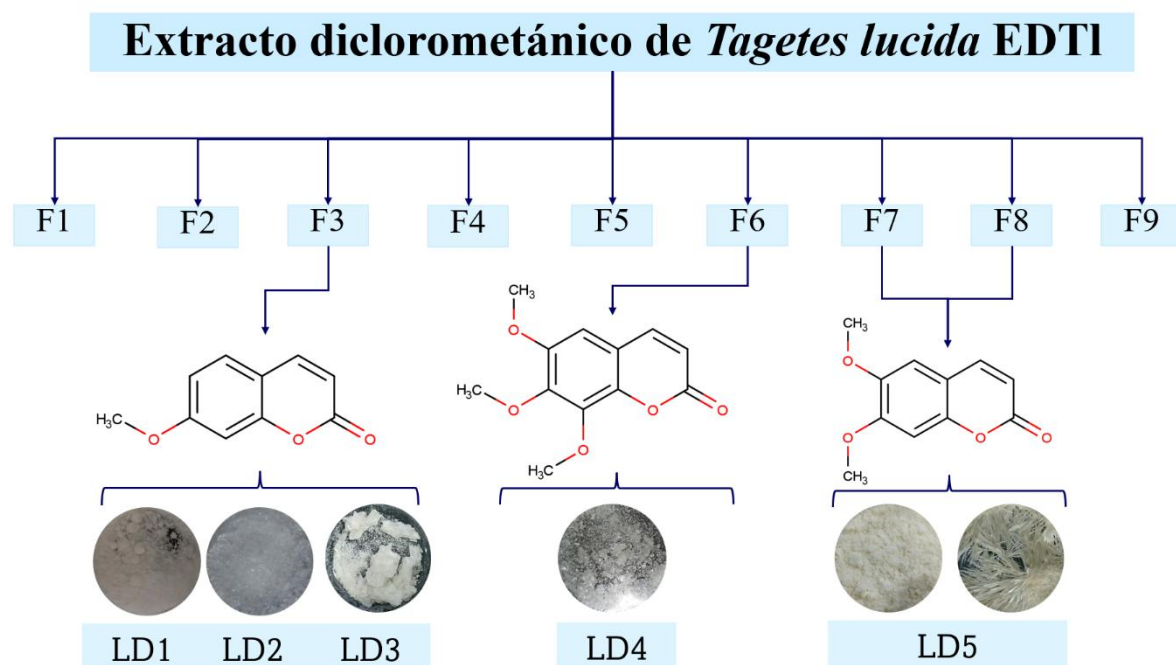


Figura 8. Fracciones primarias y compuestos aislados a partir del fraccionamiento del EDTI.

A partir de este fraccionamiento fue posible aislar 5 compuestos, LD1 a LD5 (Tabla 9), a pesar de mostrar diferentes formas, se identificó mediante cromatografía en capa fina que LD1 a LD3 correspondían al mismo compuesto.

Tabla 9. Punto de fusión de los compuestos y rendimiento respecto al peso del EDTI sometido a fraccionamiento.

Código	Compuesto	Peso (g)	Rendimiento (%)	Punto de fusión	
				Experimental	Teórico
LD1	7-metoxicumarina	3.00	15.38	111-116.3	117-118
LD2				110.5-117.5	
LD3				112.5-115.4	
LD4	6,7,8-trimetoxicumarina	0.39	1.99	102.6-104.6	104-105
LD5	6,7-dimetoxicumarina	7.35	37.69	140.4-143.4	144

Del mismo modo, se realizó CCF de los compuestos comparándolos con las cumarinas aisladas previamente por el M.F. Martín Mundo, utilizando una fase móvil 90:10 diclorometano:acetato de etilo (Imágenes 4-6)

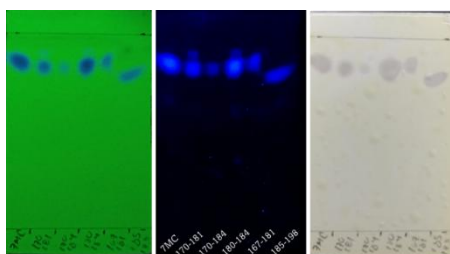


Imagen 6. Comparación de 7-metoxicumarina con LD1, LD2 y LD3, así como pp de otras fracciones. Revelación en UV de onda corta, larga y con sulfato sérico.

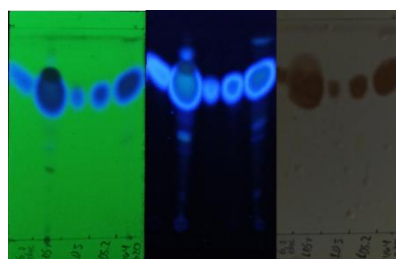


Imagen 5. Comparación de 6,7-dimetoxicumarina con el pp LD5r antes y después realizar lavados con hexano (LD5), pp de fracciones posteriores. Revelación en UV de onda corta, larga y con sulfato sérico.

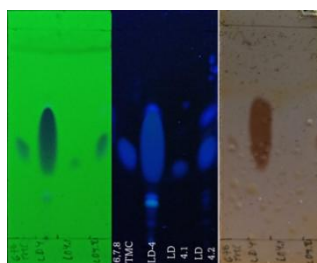


Imagen 4. 6,7,8-trimetoxicumarina (678TMC), pp LD4 antes y después de realizar lavados con hexano (LD4.1) y agua madre (LD4.2). Revelación en UV de onda corta, larga y con sulfato sérico.

8.3.1. Elucidación estructural

Para identificar los compuestos derivados de la columna, se realizó resonancia magnética nuclear de H^+ y ^{13}C ; los espectros obtenidos se analizaron con el programa MestReNova.

8.3.1.1. Resonancia magnética de H^+ y ^{13}C : LD3

El espectro de 1H -RMN de LD3 mostró las señales características del carbono 3 (6.69ppm) y 4 (8.1ppm), del ciclo de α -pirona; asimismo, se identificó la señal correspondiente a los hidrógenos del metoxilo en la posición 7 (4.3 ppm). Los desplazamientos se compararon con los reportados por Sánchez-Recillas y colaboradores (2014) y Mundo-Campuzano (2023) (Tabla 10), logrando así definir que se trataba de la 7-metoxicumarina.

Tabla 10. Señales 1H -RMN del compuesto LD3

Posición	Experimental				Sánchez-Recillas et al., 2014				Mundo-Campuzano, 2023			
	δ (ppm)	m	∫	J (Hz)	δ (ppm)	m	∫	J (Hz)	δ (ppm)	m	∫	J (Hz)
3	6.64	d	1	9.64	6.25	d	1	9.6	6.26	d	1	9.54
4	8.10	d	1	9.60	*	*	*	*	7.65	d	1	9.48
5	7.77	d	1	9.43	7.63	d	2	9.6	7.39	d	1	9.48
6	7.25	dd	1	9.43 2.53	7.37	dd	1	9.6, 1.2	6.84	dd	1	9.22, 2.44
8	*	*	*	*	6.86	d	1	1.6	6.87	d	1	2.44
1'	4.30	s	3	-	3.88	s	3	-	3.89	s	-	-

* Señales no apreciables en el espectro

Debido a la cantidad de muestra (10 mg) no se observaron los carbonos cuaternarios en el espectro de ^{13}C , sin embargo, los demás desplazamientos químicos coincidieron con aquellos reportados por los autores antes mencionados para este compuesto (Tabla 11).

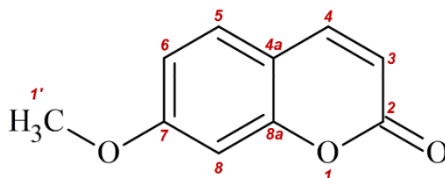


Imagen 7. Estructura química de la 7-metoxicumarina (herniarina).

Tabla 11. Señales ¹³C-RMN del compuesto LD3

Tipo de enlace con carbono	# Carbono	δ experimental (ppm)	Sánchez et al, 2014 δ (ppm)	Mundo, 2023 δ (ppm)
C=O	2	161.2	161.2	161.2
CH	3	112.7	112.7	112.5
CH	4	143.5	143.5	143.4
C	4a	*	113.2	112.6
CH	5	128.9	128.9	128.9
C	6	113.2	113.2	113.1
C	7	162.9	163.0	162.8
CH	8	101.0	101.0	100.8
C	8a	*	160.0	155.9
CH ₃	1'	55.9	55.9	55.8

* Señales no apreciables en el espectro

8.3.1.2. Resonancia magnética de H⁺ y ¹³C: LD4

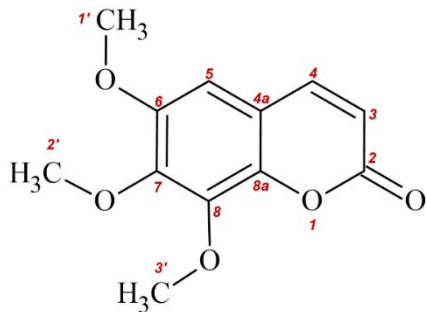


Imagen 8. Estructura química de la 6,7,8-trimetoxicumarina (dimetilfraxetina).

El compuesto LD4 fue identificado como 6,7,8-trimetoxicumarina, los desplazamientos químicos de H⁺ y ¹³C corresponden a los de Amaral y colaboradores (2001) (Tabla 12 - 13). Al igual que en LD3, se observan los desplazamientos característicos de los hidrógenos del carbono 3, 4 y los correspondientes a los tres metoxilos (4.04 ppm, 3.99 ppm y 3.90 ppm).

Tabla 12. Señales ¹H-RMN del compuesto LD4.

Posición	Experimental				Amaral et al., 2001			
	δ (ppm)	<i>m</i>	$\int$	<i>J</i> (Hz)	δ (ppm)	<i>m</i>	$\int$	<i>J</i> (Hz)
3	6.35	d	1	10.3	6.33	d	1	9.5
4	7.62	d	1	9.5	7.61	d	1	9.5
5	6.67	s	1	-	6.67	s	1	-
1'	4.04	s	3	-	4.04	s	3	-
2'	3.99	s	3	-	3.99	s	3	-
3'	3.90	s	3	-	3.90	s	3	-

Tabla 13. Desplazamientos químicos de ^{13}C -RMN del compuesto LD4.

<i>Tipo de enlace con carbono</i>	<i># Carbono</i>	δ <i>experimental</i> <i>(ppm)</i>	<i>Amaral et al, 2001</i> δ (ppm)
C=O	2	160.5	160.5
CH	3	114.3	114.3
CH	4	143.5	143.4
C	4a	115.2	115.2
CH	5	103.7	103.6
C	6	150.1	150.0
C	7	145.9	145.9
C	8	141.2	143.0
C	8a	143.0	143.4
CH ₃	1'	61.8	61.8
CH ₃	2'	61.5	61.5
CH ₃	3'	56.3	56.3

8.3.1.3. Resonancia magnética de H^+ y ^{13}C : LD5

Con base en los espectros de LD5, se pudo identificar que el compuesto correspondía a la 6,7-dimetoxicumarina. Al igual que en los casos anteriores se conservan los desplazamientos de protones vinílicos 3 y 4 con constantes de acoplamiento en posición *cis* ($J=9.11\text{Hz}$ y $J=9.25\text{Hz}$), así como los metoxilos (3.95ppm, s, 3H y 3.92ppm, s, 3H).

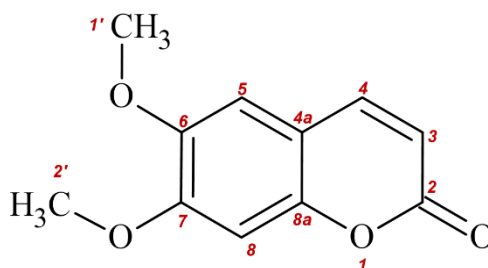


Imagen 9. Estructura química de la 6,7-dimetoxicumarina (escopoletina).

Los desplazamientos coinciden con los observados por Sánchez-Recillas y colaboradores (2014) y con las reportadas en la base de datos de espectros de compuestos orgánicos (SDBS) para esta cumarina (Tabla 14).

Tabla 14. Señales ^1H -RMN de LD5.

<i>Posición</i>	<i>Experimental</i>				<i>SDBS, 1999</i>				<i>Sánchez et al, 2014</i>			
	δ (ppm)	<i>m</i>	$\int$	<i>J</i> (Hz)	δ (ppm)	<i>m</i>	$\int$	<i>J</i> (Hz)	δ (ppm)	<i>m</i>	$\int$	<i>J</i> (Hz)
3	6.28	d	1	9.1	6.30	d	ND	ND	6.28	d	1	9.6
4	7.63	d	1	9.2	7.62	d	ND	ND	7.64	d	1	9.6
5	6.86	s	1	-	6.86	s	-	-	6.87	s	1	-
8	6.83	s	1	-	6.83	s	-	-	6.83	s	1	-
1'	3.95	s	3	-	3.96	s	-	-	3.95	s	3	-
2'	3.92	s	3	-	3.94	s	-	-	3.93	s	3	-

ND: no disponible

De igual manera, los desplazamientos de ^{13}C coincidieron con los reportados (Tabla 15).

Tabla 15. Señales ^{13}C -RMN del compuesto LD5.

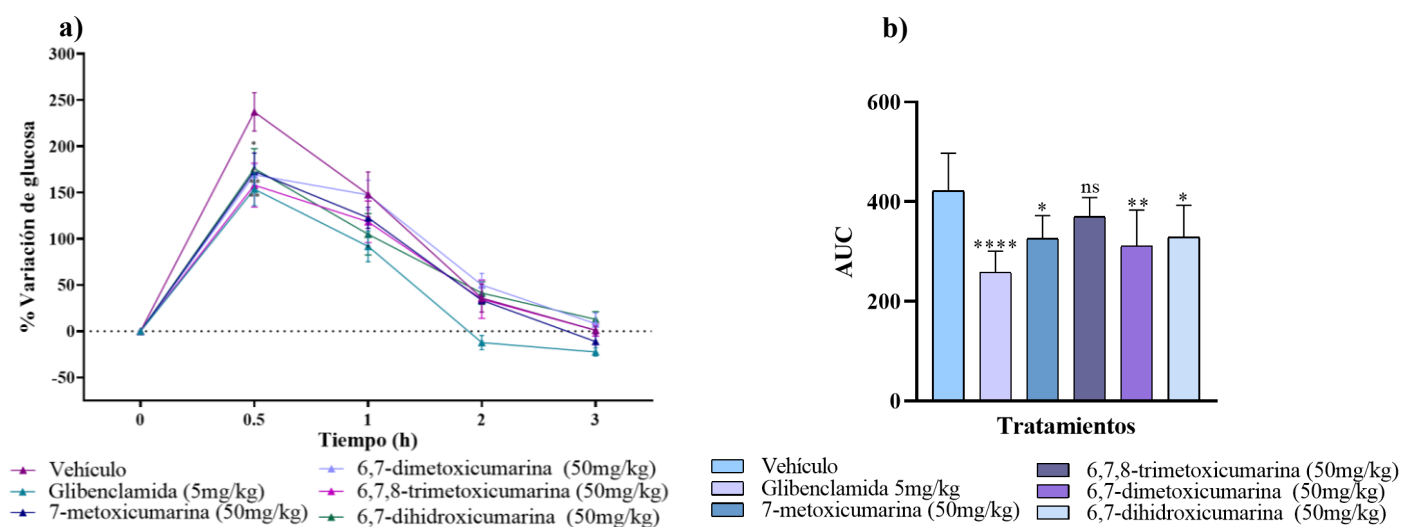
<i>Tipo de enlace con carbono</i>	# <i>Carbono</i>	δ <i>Experimental</i> (ppm)	<i>SDBS, 1999</i> δ (ppm)	<i>Sánchez et al, 2014</i> δ (ppm)
C=O	2	161.4	161.2	161.4
CH	3	113.5	113.5	113.5
CH	4	143.3	143.3	143.4
C	4a	111.1	111.5	111.5
CH	5	108.0	108.1	108.1
C	6	146.3	146.4	146.4
C	7	152.8	152.9	152.9
CH	8	100.0	100.3	100.1
C	8a	150.0	150.1	150.1
CH ₃	1' y 2'	56.4	56.4	56.2

8.4. Evaluaciones *in vivo*: cumarinas

8.4.1. Curva de tolerancia oral a glucosa

Las cumarinas purificadas se evaluaron para observar su potencial efecto antihiper glucémico. cómo puede observarse en la Gráfica 4, todas muestran diferencia significativa respecto al vehículo en la primera media hora, oponiéndose al pico hiper glucémico.

Al igual que en los extractos, estos compuestos podrían estar produciendo el efecto por bloqueo de los cotransportadores SGLT-1 o GLUT-2, en las células intestinales, disminuyendo la absorción de glucosa, o por sensibilización a insulina en los tejidos, ya que se administraron 30 min antes de la carga de glucosa.



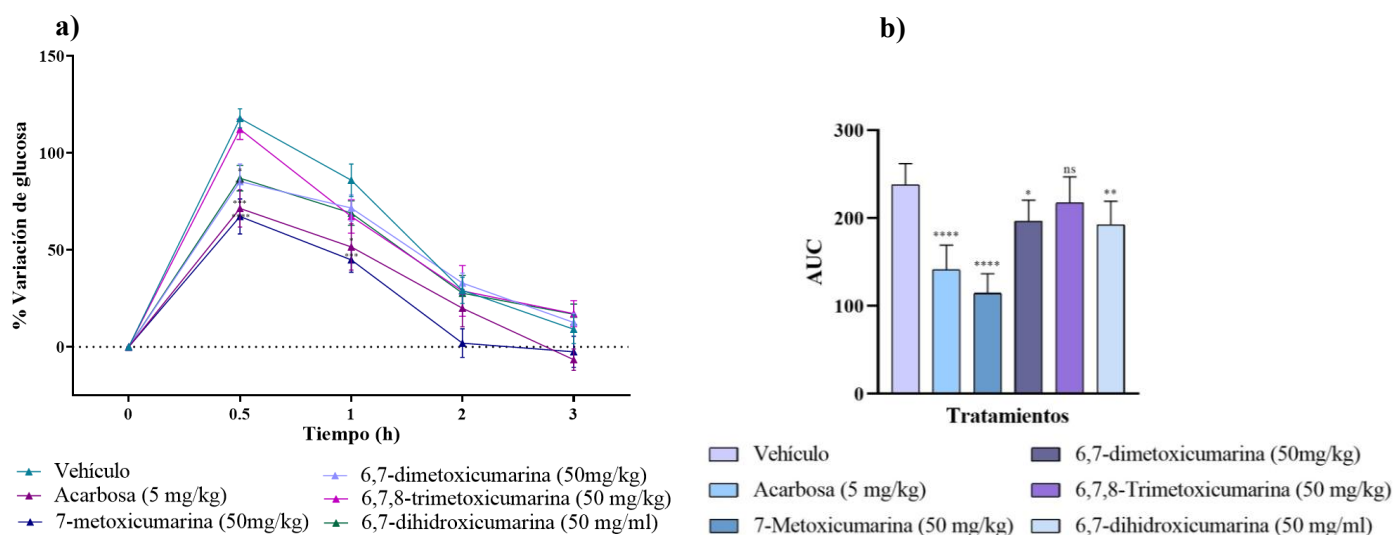
Gráfica 3. a) Comparación del efecto antihiper glucémico de las cumarinas aisladas del EDTI, en ratones normo-glucémicos. ANOVA de dos vías, prueba post hoc de Tuckey $**p < 0.0021$, $*p < 0.00332$ vs. vehículo. b) Area bajo la curva del efecto generado por las cumarinas, ANOVA de una vía prueba post hoc de Dunnet $****p < 0.0001$, $***p < 0.0002$ y $*p < 0.00332$.

Aunque hubo un descenso discreto en la variación de glucosa debajo de los niveles basales por la 7-metoxicumarina, no existió acción hipoglucemiante significativa ($p > 0.05$), es así como en ninguna de las evaluaciones se observó este efecto.

8.4.2. Curva de tolerancia oral a sacarosa

Como se observa en la Gráfica 5, la 7-metoxicumarina y 6,7-dimetoxicumarina tuvieron acción antihiper glucémica en la primera media hora, por lo que podrían estar disminuyendo la absorción de glucosa intestinal por la inhibición de las enzimas α -glucosidasas o mediante el bloqueo de los cotransportadores SGLT1 o GLUT5.

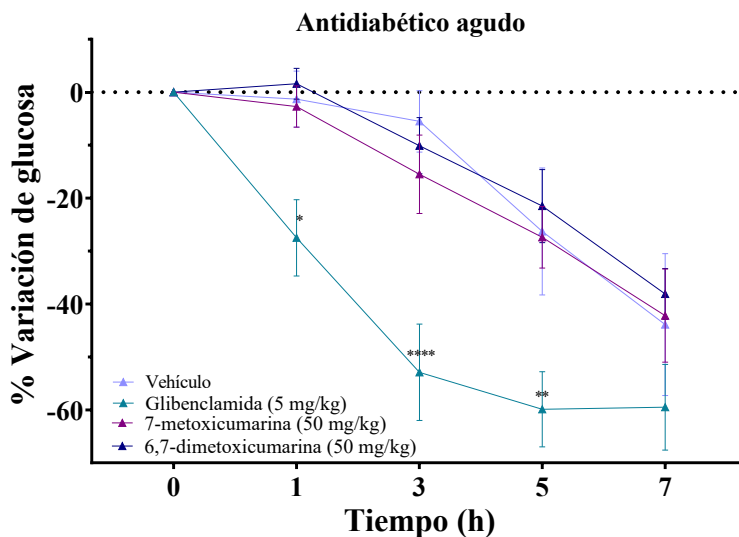
En ningún grupo tratado con las cumarinas se observó un descenso de glucemia por debajo de los niveles basales, por lo que no hubo efecto hipoglucémico.



Gráfica 4. a) Curva de tolerancia sacarosa en ratones normo glucémicos (n=7), comparación del efecto antihiper glucémico de las cumarinas obtenidas de *T. lucida*. ANOVA de dos vías, prueba post hoc de Tuckey $**p < 0.0021$, $*p < 0.00332$ vs. vehículo (Tween 80 al 10%). b) Area bajo la curva del efecto generado por las cumarinas, ANOVA de una vía, prueba post hoc de Dunnet $****p < 0.0001$, $**p < 0.00021$ y $*p < 0.00332$.

8.4.3. Antidiabético agudo

Debido a que la 7-metoxicumarina y la 6,7-dimetoxicumarina tuvieron actividad antihiper glucémica, en las curvas de tolerancia a glucosa y a sacarosa, además de tener un efecto global significativo, se evaluaron en un modelo DENID; si bien se presentó un descenso en la glucemia, este no fue significativo ($p > 0.05$) respecto al grupo administrado con el vehículo, por lo que no hubo efecto en este ensayo (Gráfica 6).



Gráfica 5. Efecto antidiabético de dos cumarinas aisladas del EDTI. ANOVA de dos vías, prueba post hoc de Tuckey
 **** $p < 0.0001$, ** $p < 0.0021$, * $p < 0.0332$, vs. vehículo (Tween 80 al 10%).

8.5. Pruebas *in silico*

8.5.1. Predicción de la toxicidad

Con servidores de libre acceso (ProTox 3.0 y ADMETlab 3.0), se predijo la toxicidad de las cumarinas aisladas. Los resultados se muestran en la tabla 16, a pesar de que pueden generar toxicidad en algunos órganos, la probabilidad de que esto ocurra es menor al 70% en todos los casos.

Por otro lado, aunque pueden inhibir el citocromo P450, las isoformas en las que este efecto podría presentarse no son las principales para el metabolismo de xenobióticos, ya que contribuyen con aproximadamente el 12% (CYP2C19) y el 3% (CYP1A2) del metabolismo de los mismos (Di & Kerns, 2016).

Tabla 16. Predicción de la toxicidad de las cumarinas

		7-metoxicumarina	6,7-dimetoxicumarina	6,7,8-trimetoxicumarina
Toxicidad oral	DL₅₀(mg/kg)	4,300	280	3,800
	Clase	V	III	V
Toxicidad sobre órganos	Hígado	Inactivo	Inactivo	Inactivo
	Riñones	Activo	Activo	Activo
	Corazón	Inactivo	Inactivo	Inactivo
Toxicidad respiratoria		Activo	Activo	Activo
Carcinogenicidad		Activo	Activo	Inactivo
Mutagenicidad		Inactivo	Inactivo	Activo
Citotoxicidad		Inactivo	Inactivo	Inactivo
Permeabilidad BHE		Activo	Activo	Activo
Neurotoxicidad		Inactivo	Inactivo	Inactivo
Inhibición CYP	3A4	--	-	-
	2D6	--	---	---
	2C9	--	---	---
	1A2	+++	-	++
	2C19	++	---	---

Los colores claros representan $p \geq 0.7$, mientras que los oscuros aluden a $p < 0.7$. Por otro lado, en la inhibición del CYP los signos representan una probabilidad igual a: 0.0-0.1 (---), 0.1-0.3 (--), 0.3-0.7 (-), 0.5-0.7 (+), 0.7-0.9 (++) y 0.9-1.0 (+++).

8.5.2. Acoplamiento molecular

La selección de los blancos se realizó con el uso del servidor DIA-DB, utilizando aquellos en los que las cumarinas presentaron afinidad.

8.5.2.1. Receptor activado por proliferadores peroxisomales (PPAR)

Existen tres isoformas de este receptor nuclear: PPAR α , PPAR β/δ , PPAR γ ; todos desempeñan un papel importante en el metabolismo de lípidos y ácidos grasos; sin embargo, PPAR γ también participa en el metabolismo de la glucosa (Wang, 2014). Considerando esto, se realizó acoplamiento sobre esta isoforma (Tabla 17), en los tres casos la energía de afinidad por este receptor es similar a la de la rosiglitazona, fármaco utilizado en la terapéutica para el tratamiento de la DT2, cuyo mecanismo de acción es la unión y activación de esta proteína.

Tabla 17. Acoplamiento dirigido sobre el sitio de unión en PPAR γ

Código PDB		1RPG
Proteína		PPAR γ
Ligandos	Energía de afinidad kcal/mol	Interacciones
Rosiglitazona	-5.146 $\pm$ 0.293	Tyr 473, His 444, His 449, Lys 367, Phe 282, Cys 285, Met 364, Leu 453, Leu 464
7-metoxicumarina	-5.979 $\pm$ 0.011	Lys 367, Tyr 473, His 323, Ser 289, Met 364, Tyr 327, Lys 285, Leu 330, Met 364, Lys 367, His 449
6,7,8-trimetoxicumarina	-5.934 $\pm$ 0.077	Arg 288, His 323, Met 364, Phe 282, Phe 363, Leu 453, Leu 469, Cys 285, His 449
6,7-dimetoxicumarina	-6.220 $\pm$ 0.026	Lys 367, Tyr 473, His 323, Ser 289, His 449, Met 364, Phe 282, Tyr 327, Cys 285, Leu 330, Lys 367

La activación de PPAR γ regula positivamente la secreción de adipocinas, como la adiponectina, por lo que la su unión por parte de las cumarinas podría favorecer la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina. A su vez, el agonismo sobre este factor estimula la expresión del transportador GLUT4, facilitando la captación celular de glucosa (Janani y Ranjitha-Kumari, 2015; Wang, 2014).

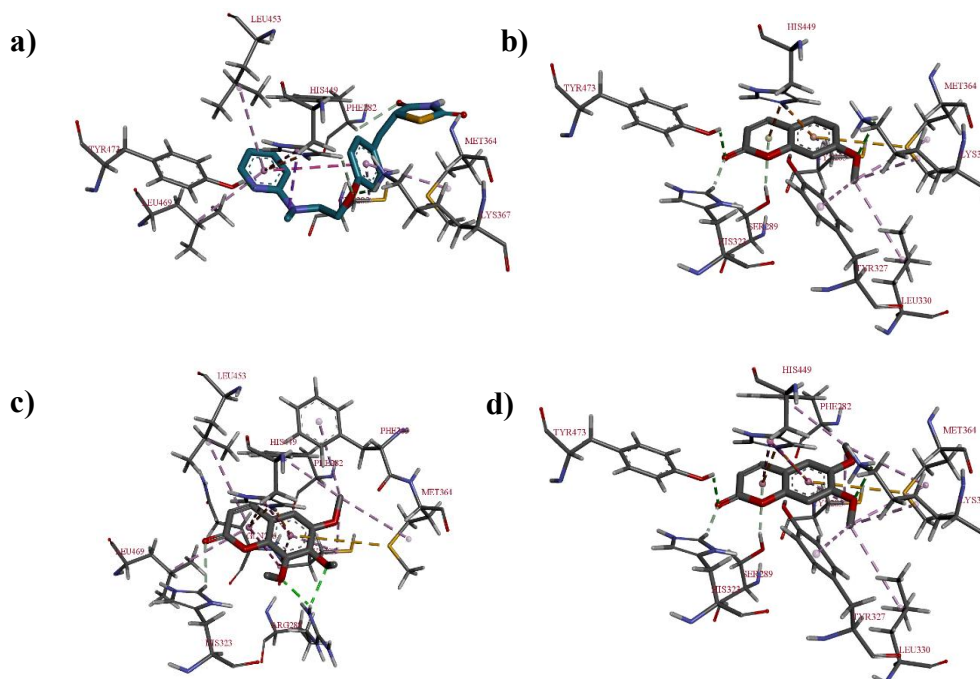


Imagen 10. Interacciones de a) rosiglitazona, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina, con el sitio de unión a ligando en PPAR γ .

8.5.2.2. Dipeptidil peptidasa IV

La dipeptidil peptidasa IV es una enzima con actividad exopeptidasa encargada de degradar el polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) y el péptido parecido al glucagón (GLP-1), secretados por las células endocrinas del epitelio intestinal en respuesta a la ingesta de alimentos (Mathur et al., 2023). Estas moléculas, conocidas como incretinas, desempeñan un papel importante en la homeostasis de la glucosa, ya que favorecen la secreción de insulina al interactuar con su receptor, además inhiben la liberación de glucagón, favoreciendo así la disminución de la glucosa plasmática (Holst, 2019).

La inhibición de la DPP-4 aumenta el tiempo de vida media de estas hormonas y mantiene su acción secretagoga de manera más prolongada, algunas de las interacciones importantes para que una molécula pueda tener este efecto involucran a los aminoácidos Tyr 662, Tyr 547, Glu 205, Glu 206, Phe 357, Arg 358, Ser 630, Asn 710 y Val 207 (Mathur et al., 2023). Como puede apreciarse en la tabla 18, la vildagliptina, fármaco que posee este mecanismo de acción, así como las cumarinas metoxiladas interaccionan con algunos de estos

aminoácidos. Además, la 6,7-metoxicumarina y la 6,7,8-trimetoxicumarina interactúan con dos a.a. considerados como la tríada catalítica del sitio activo: Ser 630, His 740 y Asp 708 (Nistala y Savin, 2017).

Tabla 18. Acoplamiento molecular dirigido sobre el sitio de unión de vildagliptina a la DPP4.

Código PDB	6B1E
Proteína	DPP4
Ligandos	Energía de afinidad kcal/mol
Vildagliptina	-5.589 ± 0.275
7-metoxicumarina	-5.415 ± 0.014
6,7,8-trimetoxicumarina	-5.592 ± 0.337
6,7-dimetoxicumarina	-5.444 ± 0.010
	Interacciones
	Tyr 666, Tyr 662, Phe 357, Asn 710, TYR631
	Arg 125, Ser 630, Tyr 662, Asn 710, Glu 206, Tyr 666, Arg 669, Tyr 256, Ala 259, Asp 663
	Arg 125, Ser 630, His 740, Glu 206, Glu 205, Phe 357
	Arg 125, Ser 630, His 740, Glu 206, Glu 205,

De esta manera, podría existir un potencial efecto inhibitorio por las tres cumarinas sobre esta enzima, relacionándose con el efecto antihiper glucémico observado en los ensayos *in vivo*.

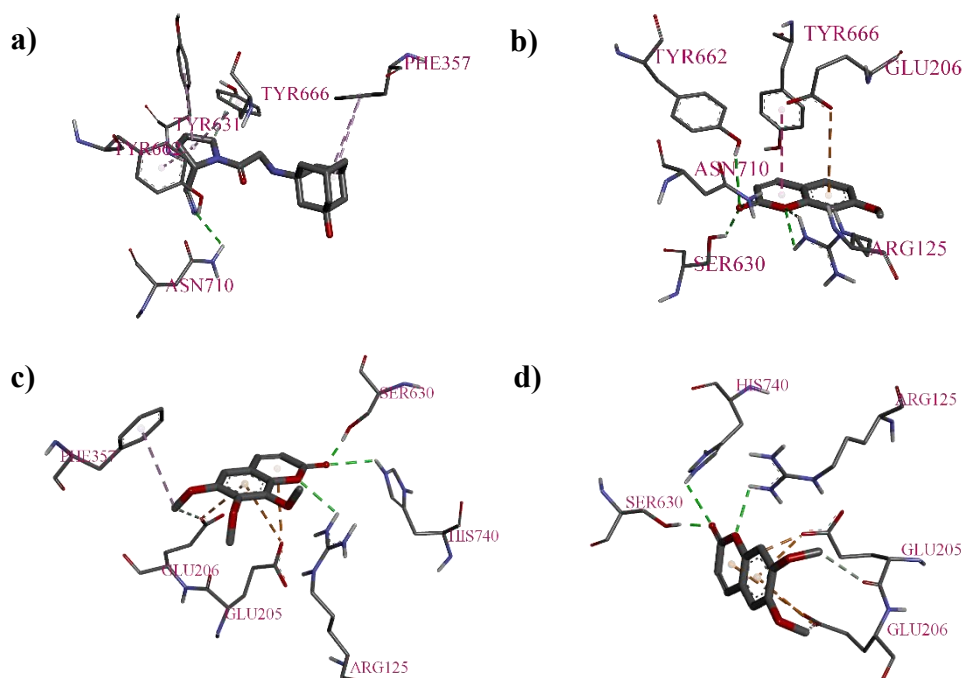


Imagen 11. Interacciones con los aminoácidos presentes en el pocket de la DPP4 (PDB: 6B1E). a) vildagliptina, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina.

8.5.2.3. Enzimas participes en la digestión de carbohidratos

La digestión de carbohidratos en la dieta inicia con la hidrólisis del almidón, mediada por la amilasa salival, localizada en la cavidad oral, y por la amilasa pancreática, secretada por los acinos del páncreas hacia la luz intestinal.

La participación de la amilasa pancreática es crucial para hidrolizar los enlaces internos α -1-4 del almidón, generando cadenas más sencillas que, posteriormente, son hidrolizadas por las enzimas del borde del cepillo intestinal, entre ellas la maltasa glucoamilasa (MGAM) y la sacarasa-isomaltasa, de modo que la glucosa producida pueda ser absorbida (Date et al., 2015).

Tabla 19. Acoplamiento dirigido sobre el sitio hidrolítico de la amilasa pancreática.

Código PDB	1XCW	
Proteína	Amilasa pancreática	
Ligandos	Energía de afinidad kcal/mol	Interacciones
Acarbosa	-7.007 ± 0.077	Asp 197, Ala 198, His 201, Asp 300
7-metoxicumarina	-6.324 ± 0.017	Leu 165
6,7-dimetoxicumarina	-6.442 ± 0.015	Asp 197, His 305, Tyr 62, Leu 165
6,7,8-trimetoxicumarina	-6.315 ± 0.011	His 305, Thr 163, Tyr 62, His 299, Leu 165

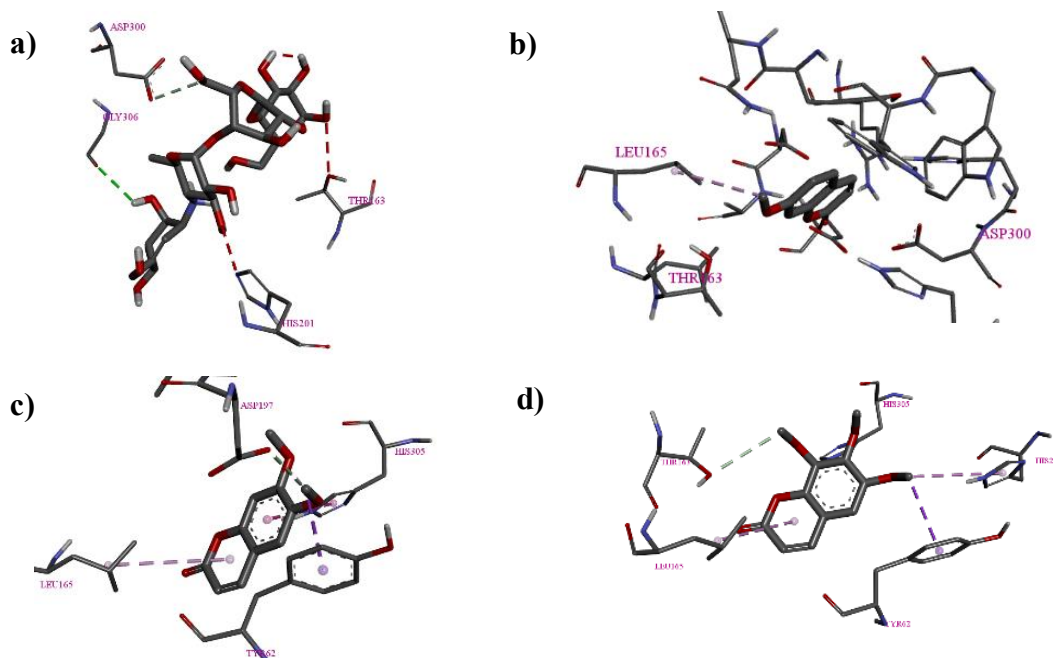


Imagen 12. Interacciones de: a) acarbose, un inhibidor de alfas glucosidasas, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina con el sitio hidrolítico de la amilasa pancreática (PDB: 1XCW).

Los inhibidores de estas enzimas, como la acarbosa, disminuyen la liberación y absorción de glucosa postprandial. El acoplamiento de las cumarinas mostró mayor afinidad por la amilasa pancreática (Tabla 19) y la región C-terminal en comparación con la región N-terminal de la MGAM (Tabla 20).

Tabla 20. Acoplamiento dirigido sobre los sitios de unión en los dos dominios de la maltasa-glucoamilasa.

Código PDB	2QMJ		3TOP	
Proteína	MGAM N-terminal		MGAM C-terminal	
Ligandos	Energía de afinidad kcal/mol	Interacciones	Energía de afinidad kcal/mol	Interacciones
Acarbosa	-7.53 ± 0.025	Arg 526, Asp 542, Asp 203, His 600, Met 444, Asp 443, Asp 327	-8.954 ± 0.133	Arg 1510, Asp 1157, Asp 1526, Asp 1279, Tyr 1251, Phe 1559, Phe 1560, Pro 1159
7-metoxicumarina	-5.93171 ± 0.010	Asp 203, Tyr 299, Trp 406, Met 444, Trp 406, Asp 542	-6.965 ± 0.010	Asp 1157, Tyr 1251, Phe 1559, Trp 1355
6,7,8-trimetoxicumarina	-5.170 ± 0.006	Arg 526, Asp 203, Asp 342, Trp 406, Tyr 299	-6.967 ± 0.006	Arg 1510, Asp 1526, Tyr 1251, Phe 1559, Phe 1560, Trp 1355
6,7-dimetoxicumarina	-5.896 ± 0.018	Arg 526, Asp 203, Trp 406, Met 444, Asp 542	-6.271 ± 0.009	Asp 1157, Tyr 1251, Phe 1559, Asp 1526, Trp 1355

Si bien las interacciones entre la acarbosa y el sitio hidrolítico de estas enzimas fueron puentes de hidrógeno, en las cumarinas predominaron los contactos de tipo π - π *stacking*, π -alquilo y de carácter hidrofóbico, con solo algunos puentes de hidrógeno (Imagen 13-14). No obstante, la energía de afinidad para estos compuestos fue similar a la de la acarbosa, por lo que podrían tener cierto efecto inhibitorio sobre estos blancos terapéuticos.

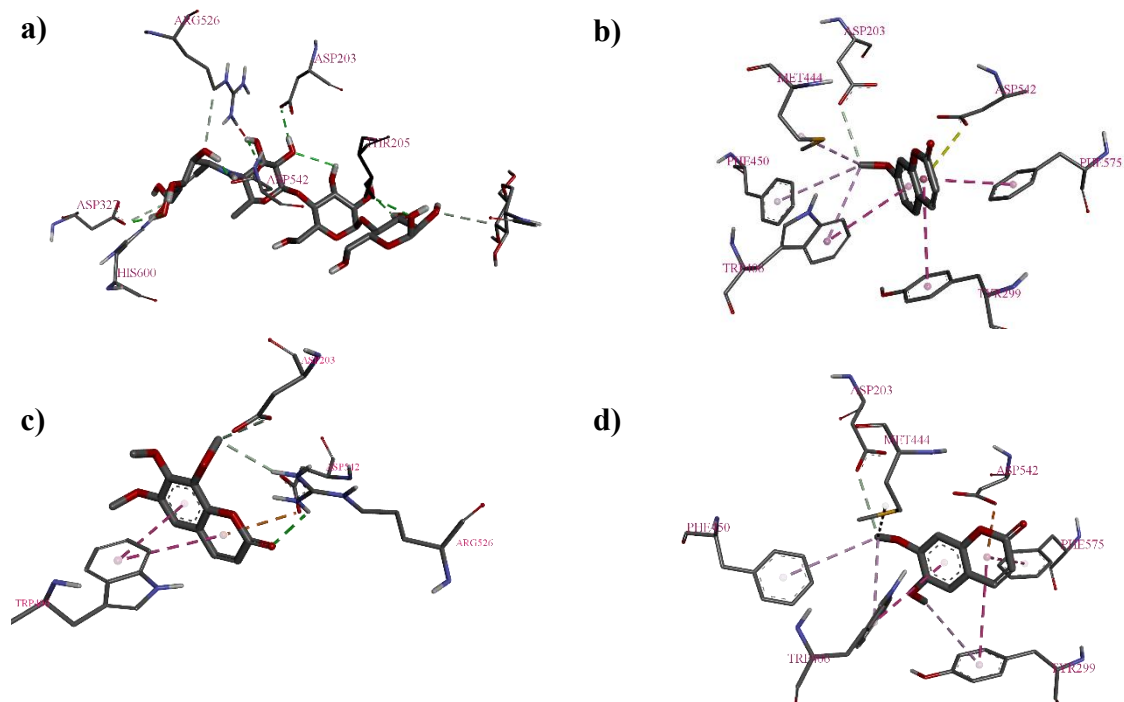


Imagen 14. Interacciones de: a) acarbose, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina con el sitio hidrolítico de la subunidad N-terminal de la maltasa-glucoamilasa (PDB: 2qmj).

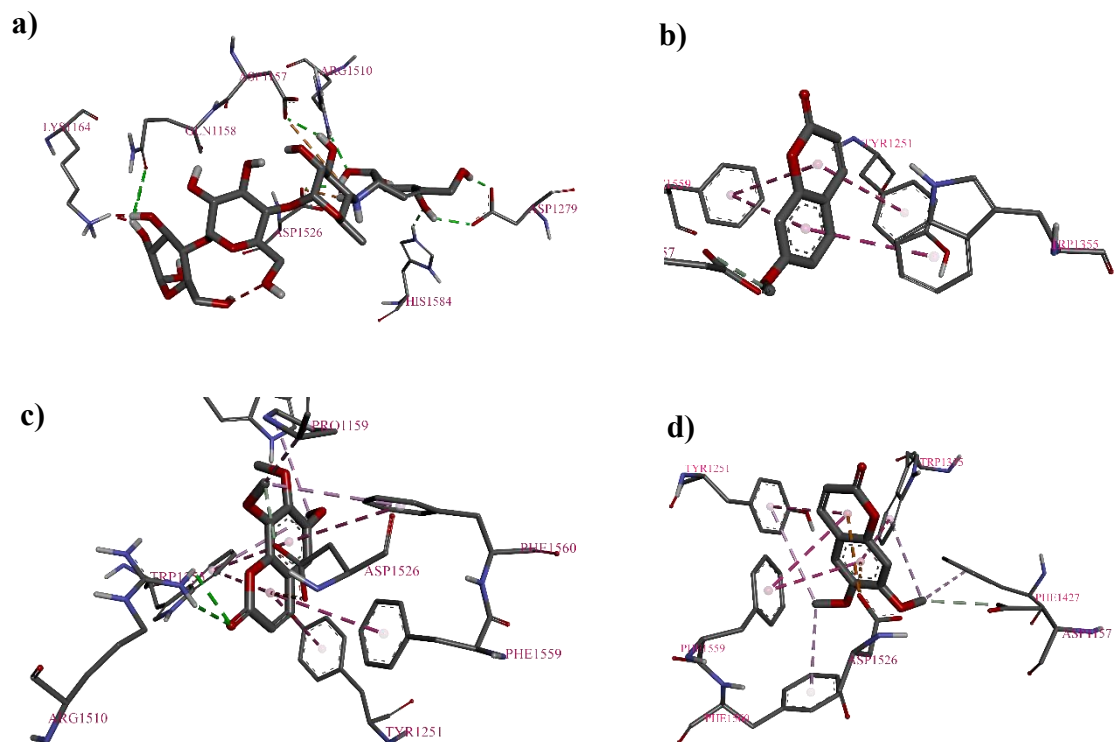


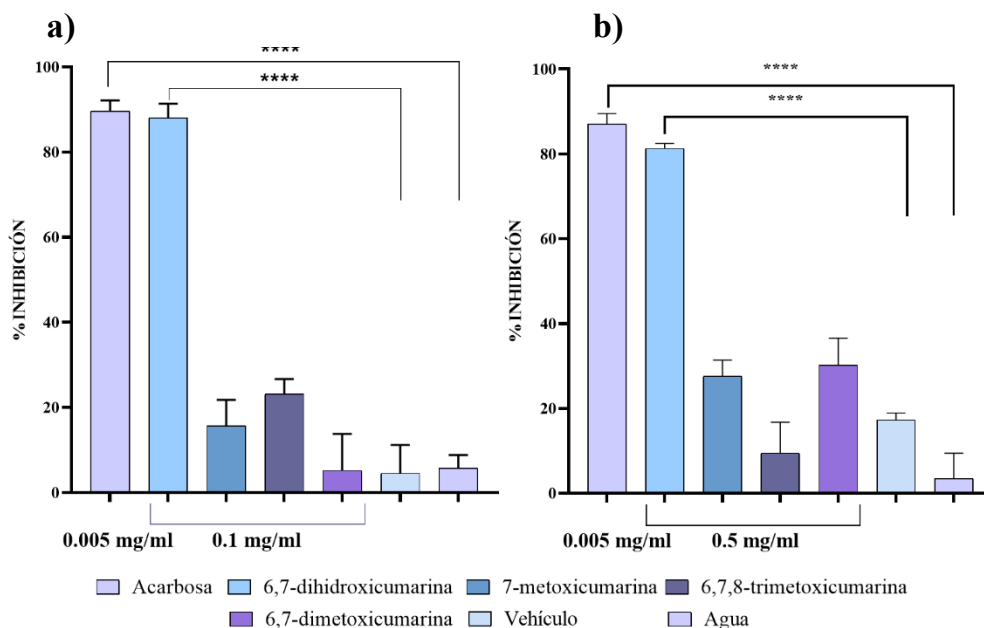
Imagen 13. Interacciones de: a) acarbose, b) 7-metoxicumarina, c) 6,7,8-trimetoxicumarina y d) 6,7-dimetoxicumarina con el sitio hidrolítico de la subunidad C-terminal de la maltasa-glucoamilasa (PDB: 3top).

8.6. Ensayo *in vitro*

8.6.1. Inhibición de α -glucosidasas

Como se ha mencionado anteriormente, las alfas glucosidasas son las encargadas de hidrolizar los enlaces presentes en los carbohidratos complejos para generar monosacáridos. Dentro de los inhibidores de estas enzimas se encuentran compuestos cíclicos altamente hidroxilados enlazados a unidades de glucosa, como es el caso de la acarbosa, lo que permite su unión al sitio activo, por el contrario, en compuestos que carecen de este patrón estructural, la presencia de residuos aromáticos es clave para la inhibición de α -glucosidasas (Park, et al. 2011).

En un análisis de estructura-actividad realizado por Moorthy y colaboradores (2011) se predijo la IC₅₀ de una biblioteca de compuestos con diferentes estructuras, y se logró determinar que en aquellos sustituidos con grupos carbonilo, átomos electronegativos y/o anillos aromáticos se favorecía la inhibición de estas enzimas. Debido a que las cumarinas aisladas cumplen con estas características estructurales, se realizó el ensayo de inhibición de alfas glucosidasas.



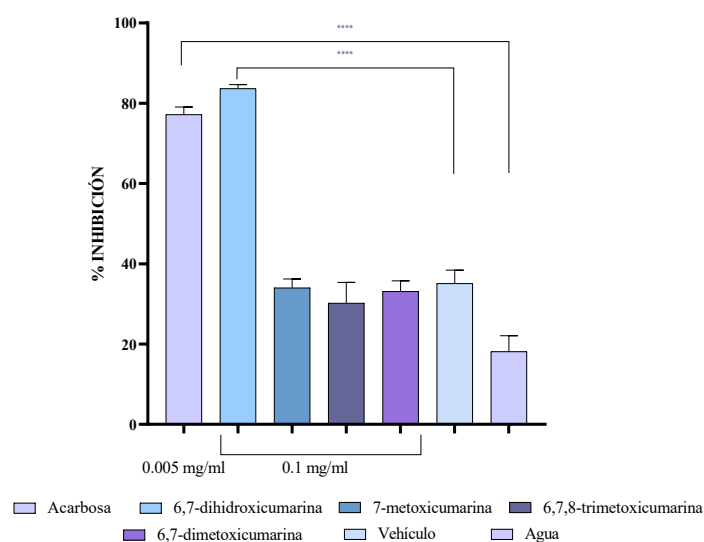
Gráfica 6. Ensayo de inhibición de alfas glucosidasas; a) concentración muestras 0.1 mg/mL. b) concentración muestras 0.5 mg/mL. ANOVA de una vía, prueba *post hoc* de Tuckey **** $p < 0.0001$.

A pesar de que en los ensayos *in silico* se obtuvieron energías de afinidad prometedoras, la evaluación a una concentración de 0.1 mg/mL arrojó porcentajes de inhibición menores al

30% en todos los casos, al incrementar la concentración a 0.5 mg/mL la inhibición fue mayor, sin embargo, en ningún grupo hubo significancia respecto al vehículo (Gráfica 7.a-b).

Şahin (2023) observó que la presencia de glicosilaciones y/o metoxilaciones en diferentes cumarinas y dihidroisocumarinas disminuía significativamente su actividad inhibitoria sobre estas enzimas. En este estudio se reportó una $IC_{50} = 374 \pm 0.7 \mu M$ (equivalente a 0.066 mg/ml) para la 6,7-dihidroxycumarina y una $IC_{50} > 800 \mu M$ (equivalente a > 0.164 mg/ml) en el caso de la 6,7-dimetoxicumarina, esto coincide con el efecto observado en la evaluación, ya que en el primer caso existió un porcentaje de inhibición $> 80 \%$ al utilizar concentraciones superiores a la IC_{50} reportada, mientras que para la 6,7-dimetoxicumarina este porcentaje no superó el 30% de inhibición bajo las mismas condiciones.

Si bien Oku y colaboradores (2011) reportaron una actividad hidrolítica similar en α -glucosidasas de rata y humano, existe solo una similitud de 74% en la secuencia entre estas especies (Madeira, et al., 2024). Además, investigaciones previas han reportado que los mismos inhibidores presentan IC_{50} distintas al evaluarse frente a α -glucosidasas de origen humano y de rata (Pyner, et al., 2017; Kan, et al., 2021; Orita, et al., 2023), por lo que este factor pudo influir en que la predicción *in silico* no se observara de manera significativa en el ensayo *in vivo*.



Gráfica 7. Ensayo de inhibición de alfas α -glucosidasas, se realizó usando como sustrato sacarosa. ANOVA de una vía, prueba post hoc de Tuckey. **** $p < 0.001$ vs vehículo.

Por otro lado, el uso de diferentes sustratos permite observar la actividad de las isoformas de α -glucosidasas, ya que no todas presentan la misma afinidad por estos (Oku, et al., 2011; Kan, et al., 2021). Considerando que la subunidad C de la sacarasa-isomaltasa tiene alta afinidad por el enlace α 1-2 de la sacarosa y es la responsable de hidrólisis de este carbohidrato dentro del organismo (Sim et al., 2008), se realizó el ensayo utilizando como sustrato este disacárido, sin embargo, no existió diferencia respecto al vehículo (Gráfica 8), por lo que la inhibición de esta isoforma no es significativa a la concentración evaluada.

9. CONCLUSIONES

Los extractos EDTI y EMTI mostraron actividad antihiper glucémica en la CTG, sin tener efecto en la curva de tolerancia a sacarosa y en el ensayo antidiabético agudo, por lo que su efecto puede relacionarse con el control de la glucosa postprandial.

El fraccionamiento del EDTI permitió aislar y purificar tres cumarinas metoxiladas: 7-metoxicumarina (LD3), 6,7,8-trimetoxicumarina (LD4) y 6,7-dimetoxicumarina (LD5), con mayor rendimiento para LD5.

Todas las cumarinas tuvieron actividad antihiper glucémica en las curvas de tolerancia a glucosa, sin embargo, solo las cumarinas mono y di sustituidas tuvieron este efecto en la curva de sacarosa, este patrón podría relacionarse con el número de sustituyentes en el núcleo de cumarina.

Si bien la inhibición de α -glucosidasas puede estar implicado en menor medida en el efecto antihiper glucémico observado en la CTS, otros mecanismos como el bloqueo de los transportadores SGLT1 o GLUT5 deben estar presentes para observar esta actividad, ya que, a pesar de presentar afinidad por las α -glucosidasas en los ensayos *in silico*, el ensayo *in vitro* mostró inhibición no significativa a las concentraciones evaluadas.

La actividad de estos compuestos podría relacionarse con el control de la glucosa postprandial debido a que no tuvieron efecto hipoglucémico en el ensayo antidiabético agudo. El mecanismo de acción del efecto antihiper glucémico podría involucrar otros blancos terapéuticos, como los cotransportadores SGLT1, GLUT-5 o la DPP-4, enzima en la que todas las cumarinas mostraron energía de afinidad similar a la vildagliptina en los ensayos *in silico*.

10. PERSPECTIVAS

- ✦ Evaluar el efecto antidiabético subagudo de la 6,7-dimetoxicumarina en un modelo de diabetes experimental no insulino dependiente.
- ✦ Explorar el efecto de las cumarinas en el ensayo de inhibición de α -glucosidasas utilizando otros vehículos que permitan tener una mejor solubilidad.
- ✦ Establecer el efecto de la 7-metoxicumarina y 6,7-dimetoxicumarina sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal en un ensayo de intestino invertido.
- ✦ Realizar los ensayos toxicológicos agudos de las cumarinas metoxiladas.
- ✦ Llevar a cabo ensayos *in vitro* para evaluar el potencial efecto de las cumarinas sobre otros blancos terapéuticos en el tratamiento de la diabetes (PPAR γ y PTP1-B).

11. REFERENCIAS

1. Abdel-Haleem, S., Ibrahim, A., & Smail, R. (2017). In-vivo hypoglycemic and hypolipidemic properties of *Tagetes lucida* alcoholic extract in streptozotocin-induced hyperglycemic Wistar albino rats. *Ann Agric Sci.* 62(2), 169–181.
2. ADA. (2025). *Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes.* Diabetes Care, 27-49.
3. Adeva, M., Pérez, N., Fernández, C., & Donapetry, C. (2016). Liver glucose metabolism in humans. *Bioscience Reports.* 36 (6), 1-15.
4. Amaral, L., Leitao, S., Delle-Monache, F. & Leitao, G. (2001). 3,4-seco-Lupanes and other constituents from *Platypodium elegans*. *Fitoterapia.* 72 (4), 441–443.
5. American Diabetes Association. (2022). *Standards of Medical Care in Diabetes 2022.* Diabetes Care, 17-38.
6. Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2019). *Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia* Edición 2019. México: Permanyer.
7. Brunton, L. E. (2019). *Goodman y Gilman; las bases farmacológicas de la terapéutica* (13°ed). México: McGraw Hill.
8. Céspedes, C. L., Avila, J. G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mugica, J. C., & Salgado-Garciglia, R. (2006). Antifungal and Antibacterial Activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(10), 3521–3527.
9. Chávez-Mejía, C., White-Olascoaga, L. & Gutierrez-Cedillo, J. (2018). *Conocimiento ambiental tradicional y manejo de recursos bioculturales en México Análisis geográfico, ecológico y sociocultural.* Estado de México. UAEM investigación universitaria.
10. Chávez Silva, F. (2019). *Estudio farmacológico, toxicológico y químico preliminar de *Achillea millefolium* y *Plantago australis* como potenciales agentes antidiabéticos.* Tesis de doctorado, UAEM.
11. Chen, L., Cheung, L. S., Feng, L., Tanner, W., & Frommer, W. B. (2015). Transport of Sugars. *Annual Review of Biochemistry*, 84(1), 865–894.

12. CONABIO (2024). Pericón (*Tagetes lucida*). Recuperado de Enciclopedia: <https://enciclopedia.mx/especies/182094-tagetes-lucida>
13. Cruz, C. (2019). Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e hipertensión. Tesis de maestría. UAEM.
14. Date, K., Satoh, A., & Ogawa, H. (2015). Pancreatic α -Amylase controls glucose assimilation by duodenal retrieval through N-Glycan-specific binding, endocytosis, and degradation. *Journal of Biological Chemistry*, 290 (28), 17439–17450.
15. Dewick, P. (2009). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. United Kingdom: Wiley.
16. Di, L., & Kerns, E. (2016). *Drug-Like Properties Concepts, Structure, Design, and Methods from ADME to Toxicity Optimization*. Elsevier.
17. Domínguez García V., et al. (2023) *Principios activos de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana*. 1° edición. México: Universidad Autónoma del Estado de México
18. Figueroa, C. (2018). Actividad inhibitoria sobre enzimas que regulan la glicemia y efecto antioxidante de una serie nueva de cumarinas sintéticas. Tesis de doctorado, Universidad de Chile.
19. Freeman, A. M., & Pennings, N. (2022). Insulin Resistance. StatPearls. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507839/>
20. Frías Zepeda, E., & Rosales Castro, M. (2023). *Farmacognosia. Principios básicos*. Universidad Juárez del Estado de Durango.
21. Fu, Z., Gilbert, E., & Liu, D. (2013). Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. *Curr Diabetes*, 9 (1), 25-53.
22. Funk, J. (2015). Trastornos del páncreas endocrino. En Hammer, G. & McPhee, S. *Fisiopatología de la enfermedad: una introducción a la medicina clínica* (págs. 497-519). México: McGraw Hill.
23. Gamero Enríquez, B.L. (2025) Evaluación de la actividad biológica de los extractos etanólicos de *Argemone mexicana*, *Chenopodium graveolens*, *Plantago major*, *Salvia gesneriiflora* y *Tagetes lucida* de Durango aplicados a enterobacterias resistentes a antibióticos. Tesis de maestría. IPN.

24. Gao, X.Y., Li, X.Y., Zhang, C.Y., & Bai, C.Y. (2024). Scopoletin: a review of its pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity. *Frontiers in Pharmacology*, 15.
25. García Sánchez, F. E. (2012). Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, estado de México. *Revista Botanical Sciences*. 90 (3), 221-232.
26. Gardner, D. y Shoback, D. (2018). *Greenspan's basic and clinical endocrinology*. Nueva York: McGraw Hill education.
27. González, A., Alegre, E., Monreal, I., & Mugueta, C. (2014). Metabolismo de la glucosa. Hiperglicemia. En A. González, *Principios de bioquímica clínica y patología molecular* (pág. 99). España: Elsevier.
28. González, F. (2017). Insulina. Estructura, síntesis, secreción, depuración y degradación (Revisión). *Vitae*, 71.
29. Gutiérrez Gaitén, Y., Scull Lizama, R., García Simón, G., & Montés Álvarez, A. (2018). Evaluación farmacognóstica, fitoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de *Tagetes lucida Cavanilles*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23 (2).
30. Gutiérrez, I. (2012). Diabetes Mellitus. En Gutiérrez, I., *La fisiopatología como base fundamental del diagnóstico clínico* (págs. 635-645). México: Medica Panamericana.
31. Hall, M., & Hall, J. (2021). *Guyton y Hall; Tratado de fisiología médica*. 14° edición. España: Elsevier.
32. Holst, J. (2019). The incretin system in healthy humans: The role of GIP and GLP-1. *Metabolism Clinical and Experimental*, 96, 46-55.
33. IDF. (2025). International Diabetes Federation. *Diabetes atlas* 11° edición.
34. IMSS. (2014). GPC: Diagnóstico y tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. México.
35. INEGI. (2022). Estadísticas de defunciones registradas (EDR) 2023. México.
36. INEGI. (2023). Estadísticas de defunciones registradas (EDR) 2024. México.
37. INEGI. (2025). Estadísticas de defunciones registradas (EDR) 2024. México.
38. Janani, C., & Ranjitha-Kumari, B. D. (2015). PPAR gamma gene – A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 9 (1), 46–50.
39. Jang, J. P. (2018). Scopoletin inhibits α -glucosidase in vitro and alleviates postprandial hyperglycemia in mice with diabetes. *European Journal of Pharmacology*, 834, 152-156.

40. Kan, L., et al. (2021). Inhibition of α -glucosidases by tea polyphenols in rat intestinal extract and Caco-2 cells grown on Transwell. *Food Chemistry*, 361, 130047.
41. Kang, K. S., et al. (2014). Protective Effect of Esculin on Streptozotocin-Induced Diabetic Renal Damage in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (9), 2069–2076.
42. Kummur, C., et al. (2018). *Robbins Basic Pathology*. 10^o edición. México: Elsevier.
43. Li, H., Yao, Y., & Li, L. (2017). Coumarins as potential antidiabetic agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(10), 1253–1264.
44. Madeira, F., et al. (2024). The EMBL-EBI Job Dispatcher sequence analysis tools framework in 2024. *Nucleic Acids Research*, 52(W1).
45. Mathur, V., et al. (2023). Insight into Structure Activity Relationship of DPP-4 Inhibitors for Development of Antidiabetic Agents. *Molecules*, 28(15), 5860–5860.
46. Monterrosas-Brisson, N. et al. (2020). Anti-inflammatory activity of coumarins isolated from *Tagetes lucida* Cav. *Natural Product Research*, 34 (22), 3244–3248.
47. Moorthy, N. S. H. N., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2011). Structural analysis of α -glucosidase inhibitors by validated QSAR models using topological and hydrophobicity-based descriptors. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 109(2), 101–112.
48. Mundo Campuzano, J. (2023). Determinación del potencial antidiabético, antihipertensivo y antiasmático de *Tagetes lucida*. Tesis de maestría, UAEM.
49. Murray, R. K., & Harper, H. A. (2013). Harper. *Bioquímica ilustrada*. Ciudad de México: Mcgraw Hill.
50. Naciones Unidas. (2011). Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA). Recuperado de: https://unece.org/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/Spanish/ST-SG-AC10-30-Rev4sp.pdf
51. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. (1999). Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Recuperado de: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/HNmrSpectralView.aspx?imgdir=hsp&fname=HSP05205&sdbno=22731>

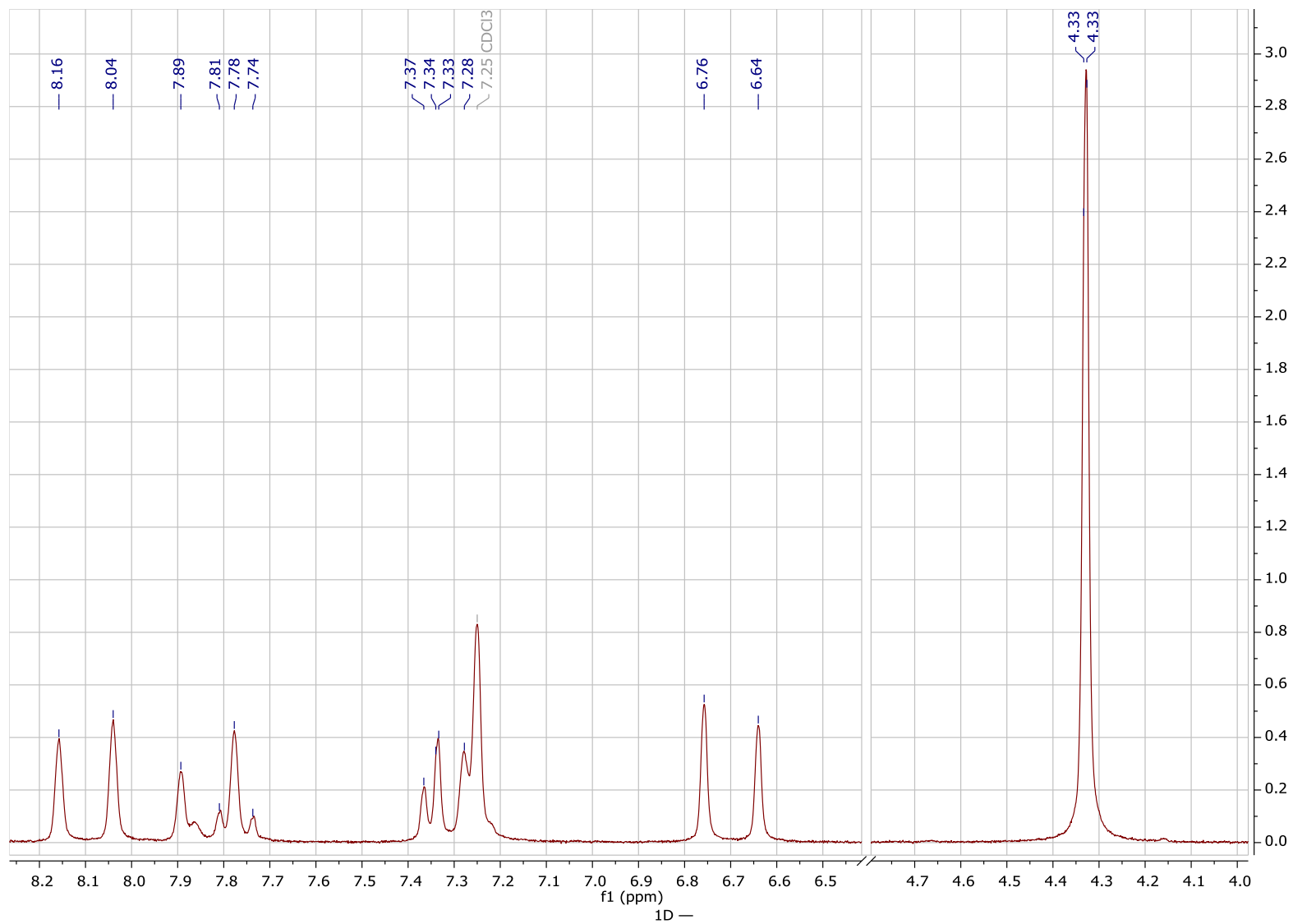
52. Nistala, R., & Savin, V. (2017). Diabetes, hypertension, and chronic kidney disease progression: role of DPP4. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 312 (4), 661–670.
53. Nurul-Islam, M., et al. (2013). Potent α -glucosidase and protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from *Artemisia capillaris*. *Archives of Pharmacal Research*, 36(5), 542–552.
54. OECD. (2001). Guideline for testing of chemicals: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method.
55. Oku, T., Tanabe, K., Ogawa, S., Sadamori, N., & Nakamura, S. (2011). Similarity of hydrolyzing activity of human and rat small intestinal disaccharidases. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 155.
56. Olivares, J., & Arellano, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la Insulina. *REB*, 27 (1), 9-18.
57. OMS. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2013-2014. China: OMS.
58. OMS. (2024). Diabetes. Recuperado de: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
59. Orita, T., Chogahara, S., Okuda, M., Sakao, K., Miyata, T., & Hou, D. (2023). Extraction Efficiency and Alpha-Glucosidase Inhibitory Activities of Green Tea Catechins by Different Infusion Methods. *Foods*, 12(13), 2611–2611.
60. Pan, Y., Liu, T., Wang, X., & Sun, J. (2022). Research progress of coumarins and their derivatives in the treatment of diabetes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37 (1), 616–628.
61. Pari, L. & Rajarajeswari, N. (2009). Efficacy of coumarin on hepatic key enzymes of glucose metabolism in chemical induced type 2 diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 181 (3), 292-296.
62. Park, S., Hyun, S., & Yu, J. (2011). Selective α -glucosidase substrates and inhibitors containing short aromatic peptidyl moieties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(8), 2441–2444.
63. Pérez-Ortega, G., González-Trujano, M. E., Ángeles-López, G. E., Brindis, F., Vibrans, H., & Reyes-Chilpa, R. (2016). *Tagetes lucida Cav.*: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 181, 221–228

64. Pérez-Sánchez, H., et al. (2020). DIA-DB: A Database and Web Server for the Prediction of Diabetes Drugs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(9), 4124–4130.
65. Pollak, F. (2016). Resistencia a insulina verdades y controversias. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27 (2), 171-178.
66. Prabakaran, D., & Ashokkumar, N. (2013). Protective effect of esculetin on hyperglycemia-mediated oxidative damage in the hepatic and renal tissues of experimental diabetic rats. *Biochimie*, 95(2), 366–373.
67. Pyner, A., Nyambe-Silavwe, H., & Williamson, G. (2017). Inhibition of Human and Rat Sucrase and Maltase Activities to Assess Antiglycemic Potential: Optimization of the Assay Using Acarbose and Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(39), 8643–8651
68. Rahman, S., et al. (2021). Role of Insulin in Health and Disease: an Update. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (12), 6403.
69. Ramesh, B., & Pugalendi, K. V. (2006). Antihyperglycemic Effect of Umbelliferone in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food*, 9 (4), 562–566.
70. Razavi, B. A., et al. (2014). Antihypertensive effect of auraptene, a monoterpene coumarin from the genus *Citrus*, upon chronic administration. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 18 (2), 153-158
71. Salehi, B., Valussi, M., Morais, M., & Pereira, J. (2018). *Tagetes spp.* Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. *Molecules*, 23 (11), 2847
72. Şahin, H. (2023). In-vitro anti-diabetic, anti-Alzheimer, anti-tyrosinase, antioxidant activities of selected coumarin and dihydroisocoumarin derivatives. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10(3), 361–369.
73. Sánchez-Recillas, A., et al. (2014). Semisynthesis, ex vivo evaluation, and SAR studies of coumarin derivatives as potential antiasthmatic drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 77, 400–408.
74. SEMARNAT. (2021). Plantas medicinales de México. Recuperado de <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico#:~:text=La%20botica%20más%20surtida%20del,de%20pueblos%20y%20com>

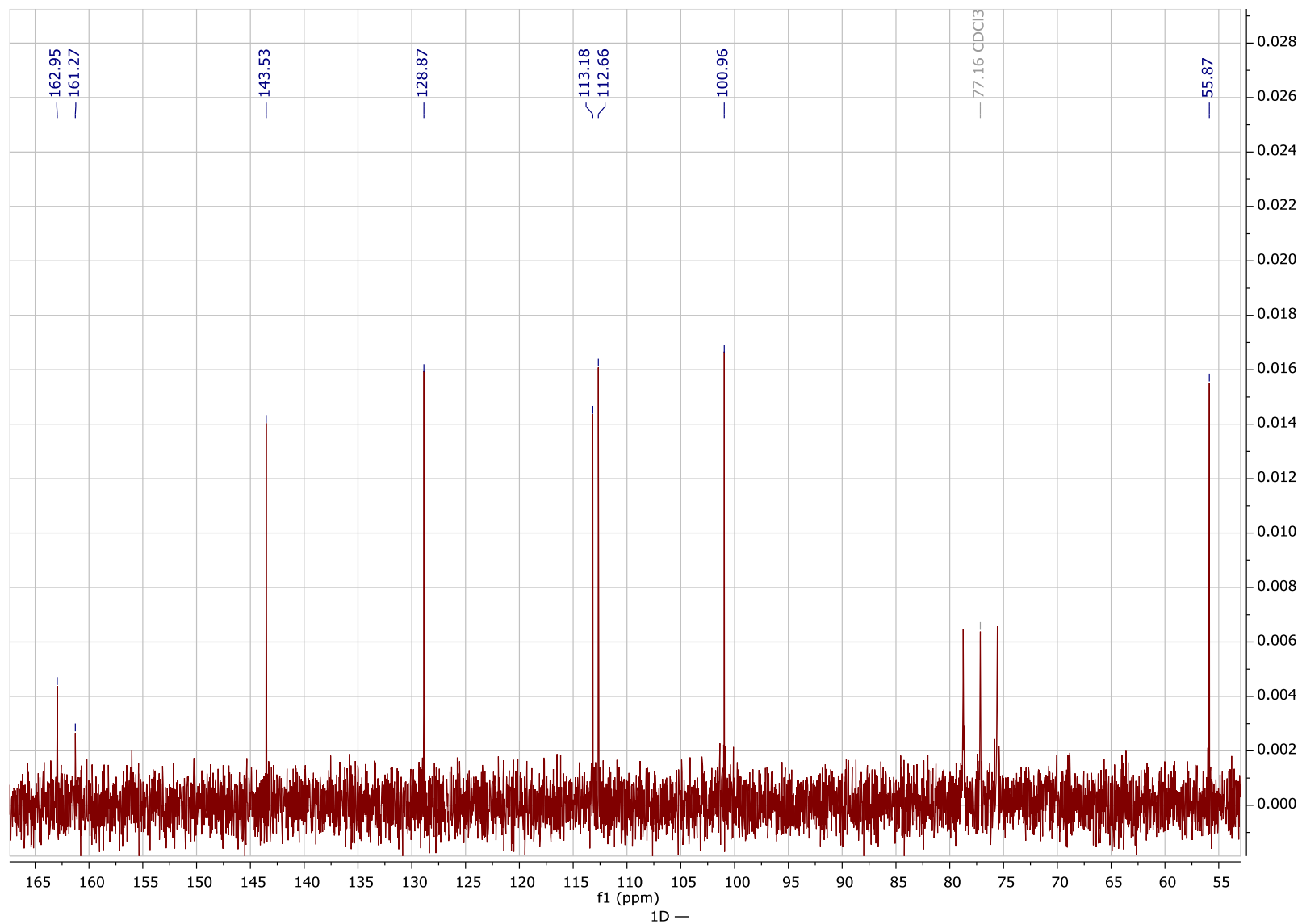
unidades%20indígenas.&text=El%2090%25%20de%20la%20población,una%20vez%20en%20su%20vida

75. Serrato, M. A. (2014). El recurso genético cempoalxóchitl (*Tagetes spp.*) de México (Diagnóstico). México: Universidad Autónoma de Chapingo.
76. Sesti, G. (2006). Pathophysiology of insulin resistance. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 20 (4), 665–679.
77. Takahashi, N., et al. (2011). Auraptene regulates gene expression involved in lipid metabolism through PPAR α activation in diabetic obese mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55 (12), 1791–1797.
78. UNAM. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana: Pericón. Recuperado de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=tagetes-lucida>
79. Ventura-Martínez, R., Ángeles-López, G. E., González-Trujano, M. E., Carrasco, O. F., & Déciga-Campos, M. (2020). Study of Antispasmodic and Antidiarrheal Activities of *Tagetes lucida* (Mexican Tarragon) in Experimental Models and Its Mechanism of Action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–10.
80. Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Research International*, 1–14.
81. Wang, L., et al. (2014). Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ): a review. *Biochemical Pharmacology*, 92 (1), 73–89.

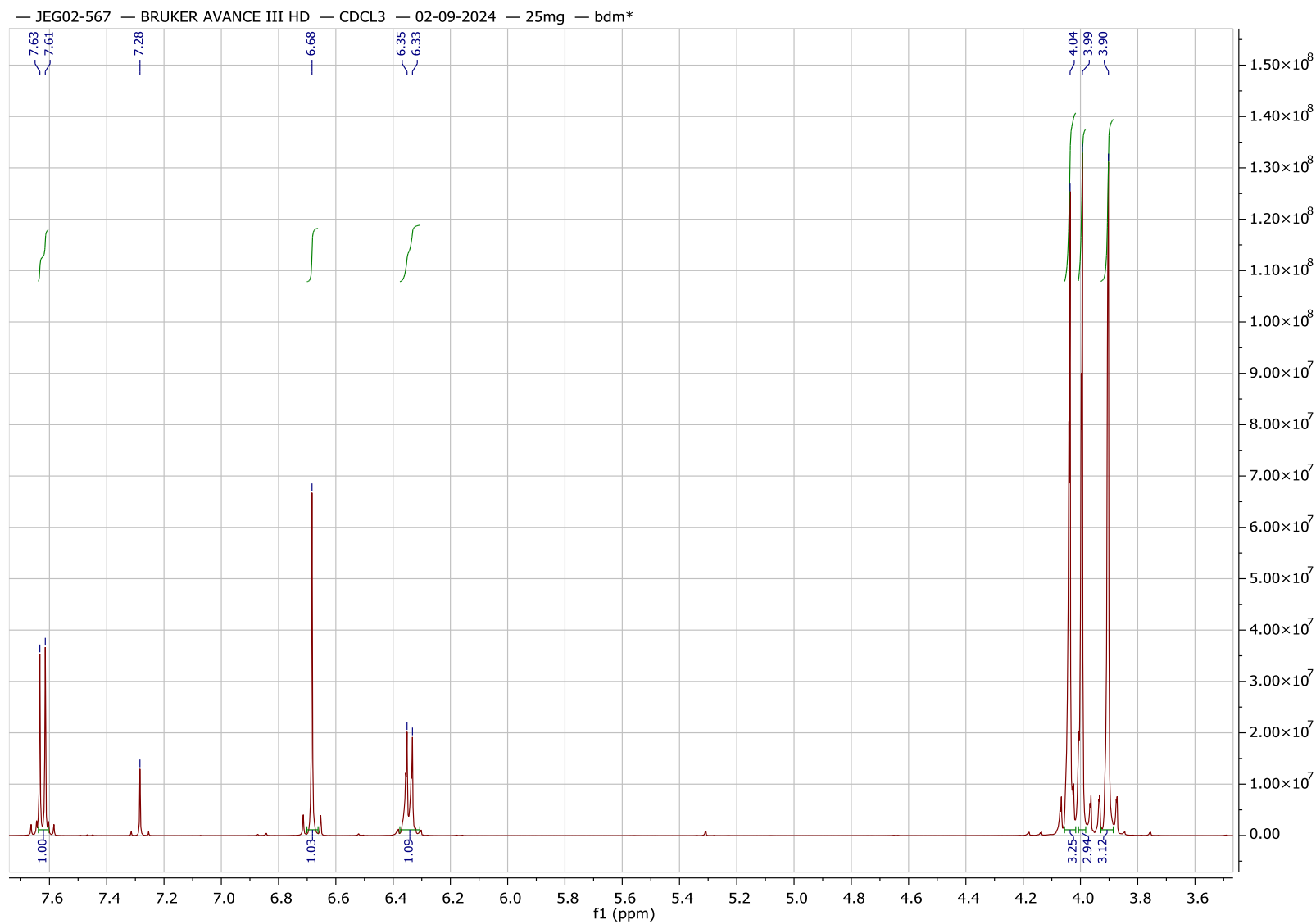
12. ANEXOS



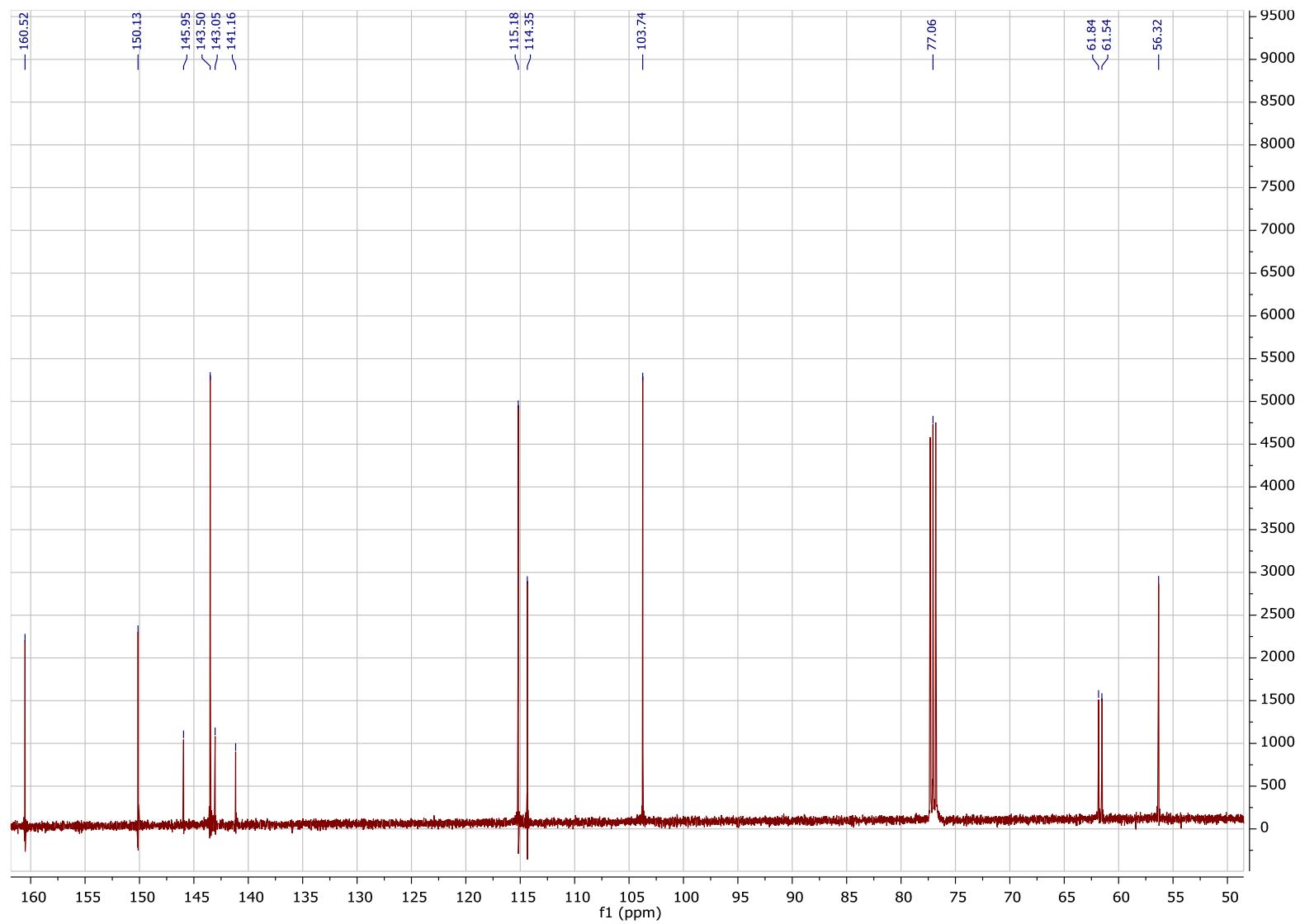
Espectro 1. Resonancia magnética de protón de compuesto LD3: identificado como 7-metoxicumarina.



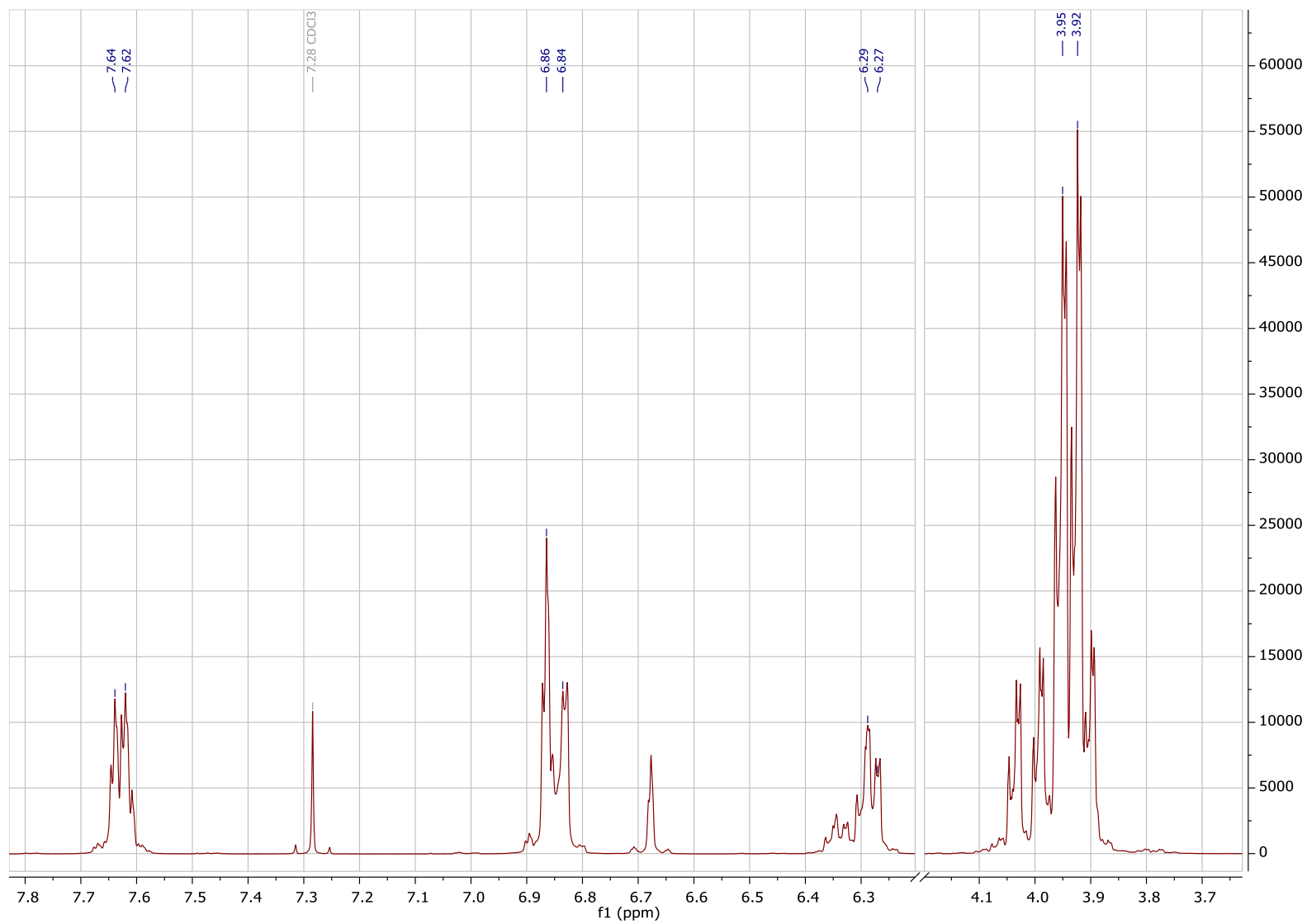
Espectro 2. Resonancia magnética de carbono 13 del compuesto LD3: identificado como 7-metoxicumarina.



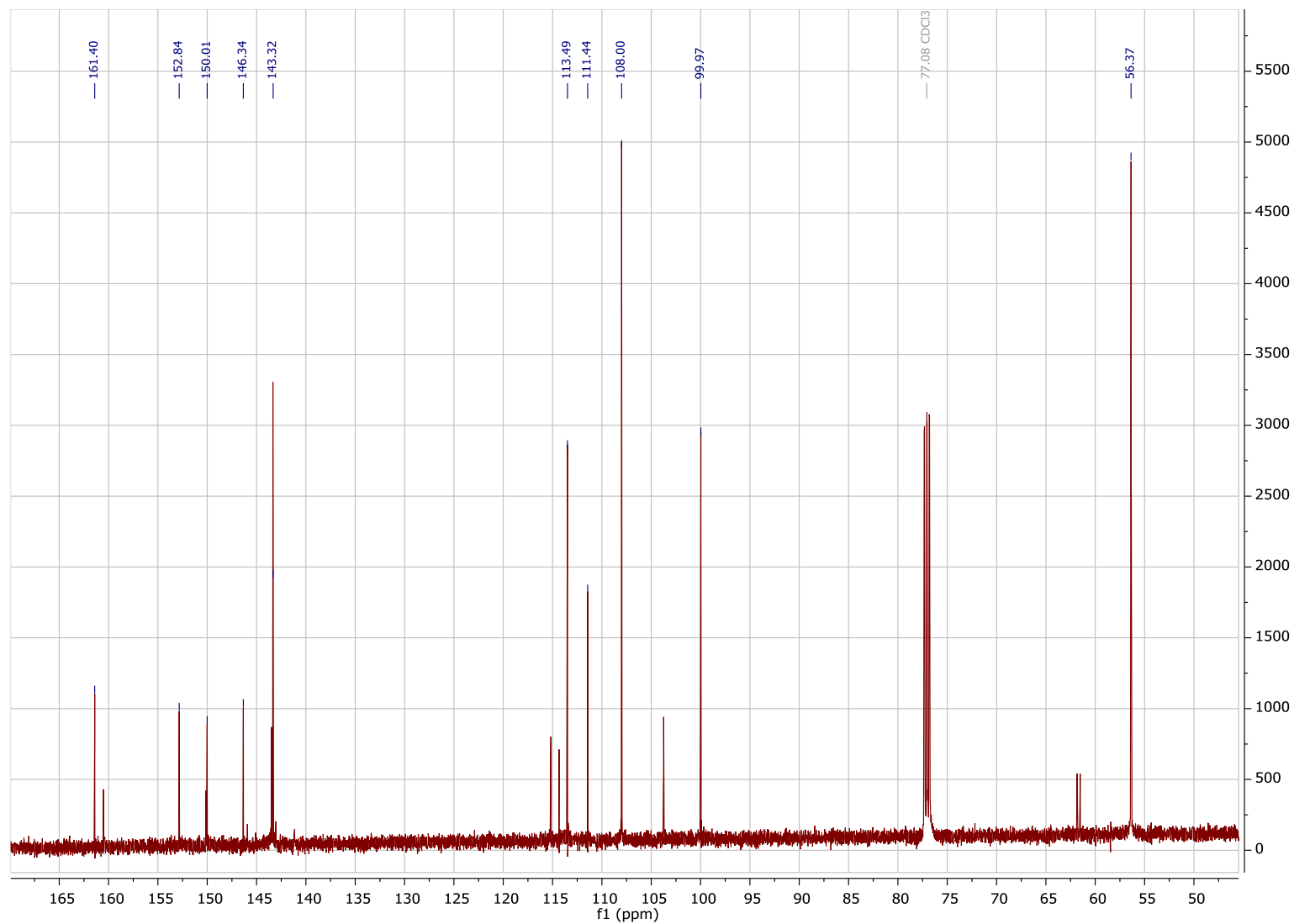
Espectro 3. Resonancia magnética de protón de compuesto LD4: identificado como 6,7,8-trimetoxicumarina.



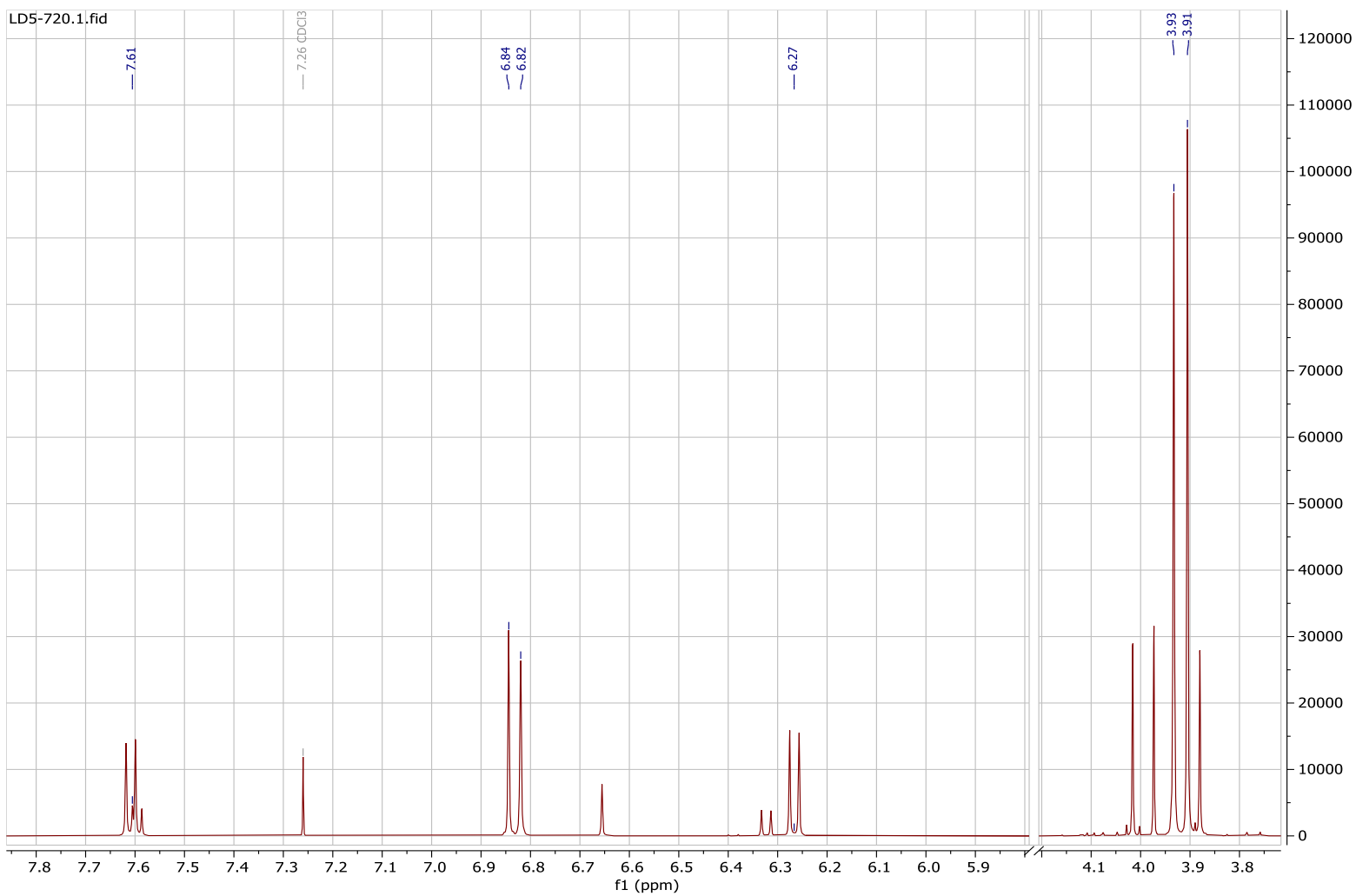
Espectro 4. Resonancia magnética de carbono 13 del compuesto LD4: identificado como 6,7,8-trimetoxicumarina.



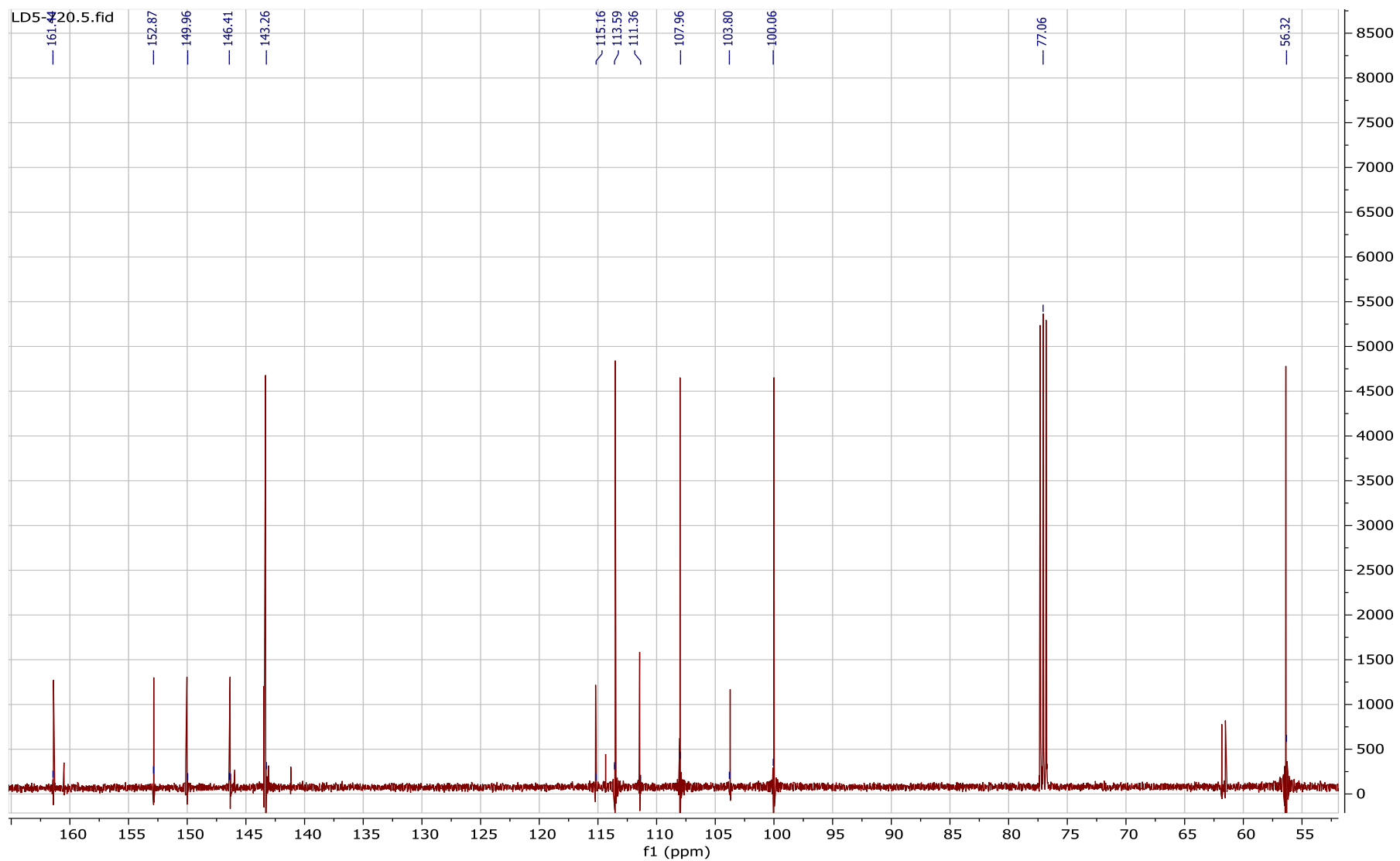
Espectro 5. Resonancia magnética de protón de compuesto LD5 previo al proceso de purificación.



Espectro 6. Resonancia magnética de carbono 13 del compuesto LD5 previo al proceso de purificación.



Espectro 7. Resonancia magnética de protón de compuesto LD5, después de su purificación; identificado como 6,7-dimetoxicumarina.



Espectro 8. Resonancia magnética de carbono 13 del compuesto LD5 después de su purificación: identificado como 6,7-dimetoxicumarina.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

GERMAN BERNAL FERNANDEZ | Fecha:2026-06-09 14:55:21 | FIRMANTE

Cghq9wuALNUe60ArAJ3LIwyPpXQCgDxJXF2uSGRqzicY5C8Bh3HwyEWBPBQqn9h+Bs3eFdvxc3d/pLnucGTavqrGhuUnpPcV7WLxB7/F5w740ltAJ0qmPxRONMeD9hird6/RZA
ho6FpQ9ovTdhj8/9aoTcceviRnl95tSMpsqF/1pLgThv5GwadOBmTtJpZT18/+RDxc+q9IcuhdSjgu4tNMzkg4eTlvdzvGaqlPDWaeAEqjQ32HJmqpz2WhPKTTVEc0q/wmLTgDAZmh
+7aJkYRzYyn2tkWbVILlbslAcBKe/bRaKTrDAaBhZDhBkHFXktNowQZy6Ki8TRK43MwWQ==

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



HDgUpXkGy

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/fzp9SF6PwBdYG62GoojD21MgN9KBnh8g>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

JESSICA NAYELLI SANCHEZ CARRANZA | Fecha:2026-06-09 12:59:30 | FIRMANTE

mG1+z/IgiSbGGfXuvanH6Ge3OKxKgwQ0mj0Th+WUtMmGirVtPmV04pcrveXDw7wjHQ//aYbYIE0FKejQeOyh2tFD7JxXY4F4iva68O09WGcLDIO1vJtjSTjxLlpqLoLR4nBkiPpnS/q3fNvnFbSIK85RUsG5n+YQ2b6NSNRXlJeJVO0Gbip/zx7G/G20KzpUNWV27GM30kvy2u541R6OjBXRmD1IRrxez4L0iKxMwxRSP8oQq8qvYD1kds7Cmafox0r+hdmftanGS40/24SR4Om+Zir7M9M7Mu8/Ri0MyYnGrh4FTUr3G4Z5PWTBX7DaR3VwltBR6gNddw1jDpnaw==

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



pUR9cAFj5

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/h6SoZve78so8hJahpBUT8AI5gAkZsWFJ>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029

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

Nombre del alumno: Laura Celeste Domínguez Quintana

Título de la tesis: “Exploración farmacodinámica de cumarinas estructuralmente relacionadas obtenidas de *Tagetes lucida* con potencial antidiabético”

Grado a obtener:

 X Maestría en Farmacia

 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. José Alberto Rivera Chávez

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta

 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma electrónica

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

JOSÉ ALBERTO RIVERA CHÁVEZ | Fecha:2026-06-09 12:48:52 | FIRMANTE

o1hVh+Vr0rm0816CtRLEptJ5L6JgggXogoqGGFC/yJmhwJw30ZPQAvSjl1eeDCKqfv2uce3PIYMfPvZbJxbTZZIOFEcqlZ9fxgFjrqlMSCY8ifd6cyCBBpwf6yShpLnt+A4p1IHBR9dtf3IwPklhSGrPeiQx0qdoY9aqODy//WQ/7uqGDDEyBwmogBpEB0DF64HoPdeKEJxtrHhPkvnHY4EQkuFZAFJKRiyNzeibFmaEmwIE5JdEaa1CDQdxEw0tx2EfSqZy0N62/7NwAswuYy+GST9yhpEWmMpW/3CLAReW3DYczsDkFPA+18zGxLZZEySN0pPcsHrS/ssgnhZAsQ==

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



67ahYBTGR

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/31WmNmImy0e5DreBFTDJ03tCQPOUKZAD>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029

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

Nombre del alumno: Laura Celeste Domínguez Quintana

Título de la tesis: “Exploración farmacodinámica de cumarinas estructuralmente relacionadas obtenidas de *Tagetes lucida* con potencial antidiabético”

Grado a obtener:

 X **Maestría en Farmacia**

 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Rafael Villalobos Molina

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta

 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma electrónica

Firma del miembro del jurado

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

RAFAEL VILLALOBOS MOLINA | Fecha:2026-06-09 16:32:32 | FIRMANTE

HrzD/r5eNehgEPTr5NQkkAXDvJdWjRSkg1/gi1DJ8zb4zrbv9VXVPfQVb7Jkqp8MdRn/xVmmZM8EsSTIYgnCSCUVYXKyCE3fZ9egjt6JZswkoeEV0WNmOX9vEWJRW/Km2Wu1kBu5AjvZN395Q98dhSLnkFzeJCrx5g0dpslyk+QdMd7/zrL/UyWT3/GO4mRwJOTaJsMao5wx/Wz/c+pHL9QCfMYSKFy0/TVv4MVYnOrr29i6dAFKmXyEzQMicKC+qsy6Ejxyjp8MHIMjry7zymnfOJbj1VDouk8ddDIK7hJ4hu2FLz0cE4LxUGLnI6rNiw1hmQPlwVRPDVbMbLU3Dw==

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



WYCxHBIRM

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/5xXFaebNAmq7kenvJvFMIB2N4X20GMw9>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2026-06-09 12:43:04 | FIRMANTE

YQjVApjT/aa1x+n6s3BpO972mbrImOychMLEMJLyuCKuWmnzzSfvPiLB74/tV96K2NpKRSN+NSCVSj6D6DLHauX6+1aCbY/fz6IH1ovGFZa8Uceswe7CD80ITBWnOs/7fpnR3FmnwAZENSGd7A1fioDrYAE8maNUq9X3tcaeDngZAQgnmFGcTuPVeJXlkxc/zM6I1VtQeSvARUPtbHT44IGWl0yvQT8QAwZzPG6gdUMK8gZd2DqEVip9ZkmhW4y4ig3aqEW2o8ot42tU42HgWmbd4PRZRhdnL4pVI4S+ciojPO5JpohD2IUGLEQQgh9/YyVjtHuZyATs7BOqq7rA==

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



FgRBI3AE8

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Yiuy0wN93lIXdHSArvHXdtx5Yc8jRfBV>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029